



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**APLICAÇÃO DE CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS EM
PERIODONTOLOGIA**

Trabalho submetido por
Carolina Branca Lopes
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**APLICAÇÃO DE CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS EM
PERIODONTOLOGIA**

Trabalho submetido por
Carolina Branca Lopes
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Ricardo Castro Alves

outubro de 2020

Agradecimentos

Antes de mais, quero agradecer ao Prof. Doutor Ricardo Castro Alves, pela orientação neste projeto, pela paciência, ajuda e disponibilidade demonstradas. Como exemplo levo o seu profissionalismo, rigor, exigência, experiência e conhecimento científico, pelos quais espero reger o meu percurso profissional daqui para a frente.

Quero também agradecer aos Mestres João Botelho e Vanessa Machado por todo o apoio, incentivo e motivação.

Agradeço ainda, às minhas queridas colegas Dina Mateus e Maria Vilarés pela disponibilidade e apoio.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz só posso dizer que foi realmente uma segunda casa nos últimos 5 anos. Não poderia ter pedido melhor academia para crescer e formar-me enquanto profissional.

Às minhas parceiras de BOXs Sofia, Madalena e Maria que partilharam comigo todos os dias nos últimos 2 anos agradeço imenso a amizade, entreajuda e nunca esquecerei tudo o que aprendemos e partilhamos juntas.

Aos amigos que fiz nesta casa, onde fomos muito felizes, Catarina, Patrícia, Margarida, Carolina, Gonçalo, Miguel, João, Carlota e Carol agradeço com um carinho enorme todo o apoio, companheirismo e amizade. Terei sempre um carinho muito especial por todos e irei relembrar eternamente memórias inesquecíveis destes últimos 5 anos.

Agradeço ainda, aos meus queridos amigos de sempre Raquel, Joana e Rodrigo que estão sempre presentes, e por quem tenho a maior admiração, orgulho e privilégio de partilhar todos os momentos importantes.

Por último e não menos especial, agradeço aos meus pais e irmão por todo o apoio, dedicação incondicional e por serem o melhor exemplo de empenho, compreensão, dedicação profissional e ambição. E claro a toda a minha família que sempre me acompanhou um muito obrigada.

RESUMO

A crescente necessidade de encontrar produtos que melhorem a cicatrização, os resultados clínicos e o pós-operatório após procedimentos cirúrgicos levou ao desenvolvimento dos concentrados plaquetários (CPs), que podemos genericamente diferenciar em plasma rico em plaquetas (PRP) e fibrina rica em plaquetas (PRF). Os CPs aceleram os processos fisiológicos induzidos pela trombina, e conduzem à formação de fibrina e à ativação plaquetária.

A presente revisão bibliográfica tem o objetivo de analisar a evidência científica mais recente referente à aplicação de concentrados plaquetários em periodontologia, bem como aferir os vários tipos, composições, protocolos, indicações e fatores que comprometem o sucesso clínico dos CPs.

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica utilizando os termos “platelet-rich plasma AND periodontal regeneration” ou “platelet-rich fibrin AND periodontal regeneration” ou “platelet-rich fibrin AND periodontal plastic surgery” ou “platelet-rich fibrin AND infra-bony defects” ou “platelet-rich fibrin AND furcation defects” ou “platelet-rich fibrin AND root coverage” nas bases de dados *Pub-Med/Medline*, *Cochrane*, *Scielo* e *ScienceDirect*. Em primeira instância foi dada preferência a meta-análises, revisões sistemáticas e a estudos randomizados controlados recentes, sendo que apenas foram selecionados artigos posteriores a 1996.

Todos os CPs têm apresentado resultados promissores no controlo da hemorragia, redução do tempo de cicatrização e estimulação da regeneração tecidual. Contudo, os L-PRFs por terem protocolos mais simples, práticos e económicos são os mais utilizados em cirurgia periodontal. Apesar de existirem resultados heterogêneos entre vários estudos semelhantes, concluiu-se que os PRFs apresentam efeitos favoráveis no tratamento de defeitos infra-ósseos, de furca, e na cicatrização de tecidos moles. O sucesso do tratamento depende do rigor da preparação, padronização do protocolo e armazenamento dos CPs. De forma a melhorar a confiabilidade e previsibilidade clínicas destes biomateriais é necessário efectuar melhorias na padronização e formulação dos mesmos.

Palavras chave: Concentrados Plaquetários; plasma rico em plaquetas; fibrina rica em plaquetas; periodontologia

ABSTRACT

The growing need to find products that improve healing and clinical and postoperative results after surgical procedures has led to the development of platelet concentrates (CPs), which we can generically divide into platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF). CPs accelerate the physiological processes induced by thrombin and lead to the formation of fibrin and platelet activation.

This literature review aims to analyze the most recent scientific evidence of the CPs in periodontology, as well as to assess the various types, compositions, protocols, indications and factors that compromise the clinical success of CPs.

A bibliographic search was performed using the terms "platelet-rich plasma AND periodontal regeneration" or "platelet-rich fibrin AND periodontal regeneration", "platelet-rich fibrin AND periodontal plastic surgery" or "platelet-rich fibrin AND infra-bony defects" or "Platelet-rich fibrin AND furcation defects" and "platelet-rich fibrin AND root coverage" in the *Pub-Med/Medline*, *Cochrane*, *Scielo* and *ScienceDirect* databases. Preference was given to meta-analyzes, systematic reviews and recent randomized controlled studies and only articles after 1996 were selected.

PCs have shown promising results in controlling bleeding, reducing healing time and stimulating tissue regeneration. However, because L-PRFs have simpler, practical and economical protocols, they are the most used in periodontal surgery. Although there are heterogeneous results among several similar studies, it was concluded that PRFs have favorable effects in the treatment of infra-bone defects, furcation, and in the healing of soft tissues. The success of treatment with PCs depends on the rigor of the preparation, standardization of the protocol and their storage. In order to improve the clinical reliability and predictability of these biomaterials, it is necessary to make improvements in their standardization and formulation.

Keywords: Platelet concentrates; platelet-rich plasma; platelet-rich fibrin; periodontology

ÍNDICE

I.	INTRODUÇÃO.....	13
1.	O que são concentrados plaquetários?.....	13
2.	Concentrados plaquetários em Medicina Dentária.....	14
II.	DESENVOLVIMENTO.....	17
1.	Constituição do sangue.....	17
1.1.	Plasma	17
1.2.	Leucócitos	18
1.3.	Eritrócitos	19
1.4.	Plaquetas.....	19
1.4.1.	Fatores de crescimento.....	21
1.5.	Hemóstase	22
1.6.	Coagulação	24
1.7.	Cicatrização.....	24
2.	Evolução Histórica dos Concentrados Plaquetários	26
3.	Classificação dos concentrados plaquetários.....	28
4.	Concentrados Plaquetários de 1ª geração	31
4.1.	Plasma rico em plaquetas (PRP)	31
4.1.1.	Plasma rico em plaquetas puro	32
4.1.2.	Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos.....	32
4.1.3.	Protocolos PRP	33
4.1.4.	Fibrina rica em plaquetas pura.....	36
4.1.4.1.	Protocolo P-PRF	36
5.	Concentrados Plaquetários de 2ª geração	38
5.1.	Fibrina rica em plaquetas e leucócitos	38
5.1.1.	Fibrina rica em plaquetas preparada com titânio	39
5.1.2.	Fibrina rica em plaquetas avançada	39
5.1.3.	PRF injetável.....	40
5.1.4.	Protocolo L-PRF	40
5.1.5.	Protocolo de produção PRF com enxerto ósseo (<i>Sticky bone</i>)	43
5.1.6.	Comparação PRF e PRP	44

6.	Aplicações de Concentrados Plaquetários em Periodontologia	46
6.1.	Concentrados Plaquetários em Recobrimento Radicular	47
6.2.	Aplicação de concentrados plaquetários após remoção de Enxerto do palato	55
6.2.1.	Concentrados Plaquetários na remoção de ETC	55
6.2.2.	Concentrados Plaquetários na remoção de EGL.....	56
6.3.	Concentrados Plaquetários em Regeneração Periodontal	62
6.3.1.	Aplicação de concentrados plaquetários em defeitos infra-ósseos	63
6.3.2.	Aplicação de concentrados plaquetários em defeitos de furca	74
6.4.	Outras aplicações.....	80
7.	Objetivos futuros	81
III.	CONCLUSÃO.....	83
IV.	BIBLIOGRAFIA.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Função das plaquetas no processo hemostático. A: Lesão do vaso com intervenção de agonistas plaquetários; B: Adesão das plaquetas ao subendotélio; C: Mudança de forma das plaquetas, e consequente secreção dos grânulos; D: Ligação plaqueta/plaqueta; E: depósito da fibrina sobre o coágulo. (Adaptado de Castro et al., 2006).....	23
Figura 2 - Fluxograma representativo da preparação geral do PRP (Adaptado de Perez et al., 2014).....	33
Figura 3 - Representação das diferentes camadas após a 1ª Centrifugação (Adaptado de Anitua et al., 2004).	34
Figura 4 – 2ª centrifugação dos protocolos de P-PRP ou L-PRP (Adaptado de Anitua et al., 2004).....	35
Figura 5 – Coágulo de PRF após centrifugação e preparação. A zona inferior (adjacente à camada de eritrócitos) é a mais rica em plaquetas e células mesenquimatosas. (figura gentilmente cedida pela Mestre Filipa Passos Sousa).....	43
Figura 6 – Produção de <i>sticky bone</i> . A – Pode distinguir-se os vários constituintes: i-PRF, membrana L-PRF e enxerto ósseo; B – Membrana de <i>sticky bone</i> (figuras gentilmente cedida pelo Prof. Doutor Ricardo Alves)	44
Figura 7 – Tratamento de recessão gengival RT1 múltipla com recurso a um retalho de reposicionamento coronal (RAC) e membrana de PRF. (figura gentilmente cedida pelo Prof. Doutor Ricardo Alves).....	49
Figura 8 – Aplicação de membrana L-PRF no palato após recolha de ETC (figuras gentilmente cedidas pelo Prof. Doutor Ricardo Alves).....	56
Figura 9 – Aplicação de membrana L-PRF no palato, após recolha de EGL (figura gentilmente cedida pelo Prof. Doutor Ricardo Alves)	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores de crescimento presentes nos CPs e suas funções específicas (Dhurat & Sukesh, 2014).	22
Tabela 2 - Classificação de concentrados plaquetários (adaptado de Dohan et al., 2009)	29
Tabela 3 - Protocolos de centrifugação para a preparação de diferentes formas de PRF. (Adaptado de Sousa et al., 2020).....	42
Tabela 4 – Concentrados plaquetários em tratamento recessões gengivais RT1 (segundo os métodos PRF+RAC vs RAC; PRF+RRL vs. RRL; RAC + L-PRF vs. RAC+ETC). 54	
Tabela 5 – Concentrados plaquetários no palato, após recolha EGL e ETC.....	61
Tabela 6 – Concentrados plaquetários em defeitos infra-ósseos.....	73
Tabela 7 – Concentrados plaquetários nem defeitos de furca (DRA+PRF vs. DRA+PRP vs. DRA; PRF+DRA vs. DRA; PRF/ DFDBA vs. DFDBA + membrana colagénio). ..	79

LISTA DE SIGLAS

ADP-Difosfato de adenosina

AL - Alendronato

ATP-Trifosfato de adenosina

BC - "buffy coat"

BMP - Proteína óssea morfogénica

CP - Concentrado Plaquetário

DIO- defeito infra-ósseo

DRA - Desbridamento a retalho aberto

EG- Espessura gengival

EGF - Fator de crescimento epidérmico

EGL-Enxerto gengival livre

EHI- Índice precoce de cicatrização

EO - Enxerto ósseo

ETC - Enxerto de tecido conjuntivo

EVA - Escala visual analógica

FC- Fator de crescimento

FGF - Fator de crescimento de fibroblastos

GO - Ganho ósseo

GV - Hemácias

HA- Hidroxiapatite

IGF1 - Fator de crescimento de insulina – 1

LP - Ligamento Periodontal

L-PRF - Plasma rico em plaquetas e leucócitos

L-PRP - Plasma rico em plaquetas e leucócitos

LGQ - Largura do tecido queratinizado

MA - Membrana amniótica

MOBDP - Mineral de osso bovino desproteinizado

ncHA - Nano cristais de hidroxiapatite

NIC - Nível de inserção clínica

PD - Profundidade do defeito

PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas

PME - Proteínas da matriz de esmalte
PPP - Plasma pobre em plaquetas
P-PRF - Fibrina rica em plaquetas pura
P-PRP - Plasma rico em plaquetas puro
PRF – Fibrina rica em plaquetas
PRP – Plasma rico em plaquetas
PS - Profundidade de sondagem
RAC – Retalho de avanço coronal
RBC – Camada de Glóbulos vermelhos
RCT - Ensaio clínico randomizado
RG - Recessão gengival
HNIC - Nível relativo de inserção clínica horizontal
RM - Retalho modificado (Kirkland)
RRC - Recobrimento radicular completo
RR - Recobrimento radicular
RRT – Retalho de rotação lateral
RTG- Regeneração tecidual guiada
β-TCP - Fosfato Beta-tricálcio
VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular
VNIC – Nível relativo de inserção clínica vertical

I. INTRODUÇÃO

1. O que são concentrados plaquetários?

O desenvolvimento de complementos cirúrgicos bioativos previsíveis para reparar, regenerar ou restaurar tecidos periodontais danificados tem sido um dos grandes desafios na área de biomateriais e engenharia tecidual (Dohan et al., 2017; Miron et al., 2017). Um requisito basilar para o sucesso da regeneração óssea e de tecidos moles é a existência de uma boa vascularização que permita a acessibilidade a nutrientes e oxigênio necessários à função celular, favorecendo o processo de regeneração e cicatrização dos tecidos adjacentes. Contudo, a maioria dos biomateriais regenerativos são avasculares e por esta razão é essencial que as estratégias regenerativas destes se concentrem, numa fase inicial, no desenvolvimento de uma rede vascular (Miron et al., 2016). Neste contexto, nas últimas décadas, têm surgido novas técnicas e produtos autólogos com potencialidades regenerativas, como é o caso dos concentrados de células tronco, células endoteliais ou de plaquetas (Ghanaati et al., 2014).

Os concentrados de plaquetas são nada mais do que preparados de sangue autólogo constituídos essencialmente por plaquetas, proteínas plasmáticas, eritrócitos e células endoteliais residuais e por vezes leucócitos (Pinto et al., 2014), que podem ser aplicados cirurgicamente para estimular e melhorar a cicatrização e regeneração dos tecidos duros e moles (Dohan et al., 2009).

A primeira geração de concentrados autólogos de plaquetas surgiu nos anos 90 e foi denominada plasma rico em plaquetas (PRP), que tal como o nome indica é constituído essencialmente por plasma e plaquetas, descartando os leucócitos e eritrócitos presentes no sangue (Wu et al., 2016). Entretanto, graças ao interesse científico que o conceito de concentrado plaquetário despoleta foram desenvolvidos novos preparados ricos em plaquetas com protocolos e métodos de produção diferentes. Surgiu assim o PRF, uma nova geração de concentrados plaquetários totalmente autólogo, que pressupõe a presença de leucócitos e é totalmente autólogo (Choukroun et al., 2006; Dohan et al., 2009; Bielecki & Dohan, 2012; Miron, Zucchelli & Choukroun, 2017).

Além das suas capacidades cicatrizantes e regenerativas, os CPs são reconhecidos pelo mínimo risco de rejeição e infecção por parte dos tecidos humanos, pois ao aplicar um preparado de defesas autógenas rico em plaquetas e leucócitos existe uma maior potencialidade de combater os microrganismos patogénicos (Dohan et al., 2019). E por essa razão, os CPs não tem contraindicações. Todas as pessoas podem recorrer à sua aplicação, até mesmo pacientes anti coagulados, basta adaptar a condição do paciente ao protocolo de produção do CPs.

As desvantagens dos CPs prendem-se com os factos de ser necessário fazer punção do sangue e a quantidade de biomaterial obtido ser limitado, e por isso têm utilidade limitada em macro cirurgias. Outra desvantagem é o facto de alguns CPs terem protocolos exigentes.

2. Concentrados plaquetários em Medicina Dentária

Devido aos benefícios regenerativos, hemostáticos e cicatrizantes das plaquetas, leucócitos e fatores de crescimento, os CPs têm sido amplamente estudados e aplicados em diversas especialidades Médicas, obtendo resultados muito favoráveis nas áreas de Dermatologia, Ortopedia, Medicina Desportiva ou Cirurgia Plástica (Dohan et al., 2006; Dohan et al., 2017). Mais recentemente têm surgido resultados igualmente promissores em diversas áreas de Medicina Dentária: Cirurgia Oral, Periodontologia, Implantologia ou Endodontia (Dohan et al., 2019).

Várias revisões sistemáticas atuais sugerem a aplicabilidade clínica dos CPs em Periodontologia, quer em regeneração periodontal, em defeitos infra-ósseos e defeitos de furca, quer em cirurgia plástica periodontal, no tratamento de recessões gengivais, e como coadjuvante na cicatrização de feridas de tecido mole. Paralelamente, estudos recentes também indicam que CPs podem ser aplicados em cirurgias de elevação do seio maxilar, preservação do rebordo alveolar e da crista alveolar após extração dentária, no aumento da osseointegração, aumento da largura de mucosa queratinizada ao redor dos implantes, regeneração endodôntica e, até mesmo, no tratamento de osteonecrose por associação de medicação e de osteorradionecrose. São reconhecidos ainda benefícios dos concentrados plaquetários no alívio da dor em disfunções temporo-mandibulares, em úlceras orais e mais recentemente no tratamento da peri-

implantite (Strauss, 2020).

Apesar de oferecerem perspectivas terapêuticas interessantes, a importância dos concentrados de plaquetas continua a ser amplamente debatida, visto que os seus mecanismos de cicatrização e regeneração celular continuam confusos e contraditórios (Strauss, 2020). Segundo a revisão sistemática de Miron, Zucchelli, & Choukroun, 2017, apesar de existirem mais de 300 artigos publicados sobre as potencialidades dos CPs, alguns continuam a questionar os seus benefícios pois, por vezes, os resultados obtidos são difíceis de interpretar e não correspondem ao esperado. Este facto pode dever-se à ausência de uma terminologia adequada para distinguir os concentrados de plaquetas, à ampla variedade de técnicas e protocolos de preparação e ao não cumprimento dos protocolos estabelecidos e publicados pela comunidade científica, bem como ao desrespeito dos *timings* de preparação e armazenamento dos CPs (Dohan et al., 2009; Dohan et al., 2014).

Esta revisão monográfica tem como objetivo analisar a evidência científica mais recente da aplicação de CPs em Periodontologia, bem como aferir os vários tipos, composições, protocolos, indicações e fatores que comprometem o sucesso clínico dos mesmos.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Constituição do sangue

O sangue é constituído pelo plasma (55%) e pelos elementos figurados (45%), eritrócitos, leucócitos e plaquetas, que em conjunto desempenham várias funções que permitem a manutenção das funções celulares e a comunicação entre os vários órgãos, nomeadamente: o transporte de gases, nutrientes, hormonas e produtos de degradação, transporte de moléculas, regulação do pH e da osmose, manutenção da temperatura corporal, proteção contra substâncias estranhas e formação de coágulos (Seeley, 2011; Van der Meer, 2013).

1.1. Plasma

O plasma representa a parte líquida do sangue. Trata-se de um fluido amarelo pálido, constituído essencialmente por água (91%), que serve de solvente para as proteínas plasmáticas, iões, moléculas orgânicas (vitaminas, hormonas, enzimas), gases (oxigénio, dióxido de carbono, nitrogénio) e produtos de degradação (glicose, lipídios, aminoácidos) (Hall & Guyton, 2017; Seeley, 2011). Os principais constituintes celulares do plasma são as proteínas plasmáticas (albumina e globulinas) e as proteínas de coagulação (fibrinogénio, protrombina, trombina) (Hall & Guyton, 2017; Al-Hamed et al., 2019). A albumina, sintetizada no fígado, constitui cerca de 58% das proteínas plasmáticas e é responsável pela viscosidade do sangue e pelo movimento da água entre o sangue e os tecidos adjacentes, subsequente da pressão oncótica (Skaliczki et al., 2013).

As globulinas representam 38% das proteínas plasmáticas. Algumas fazem parte do sistema imunitário, como os anticorpos e as proteínas do sistema do complemento, outras funcionam como moléculas de transporte e as restantes como proteínas adesivas, como é o caso da fibronectina que desempenha um papel fundamental na cicatrização, contribuindo para a formação de matriz extracelular (Seeley, 2011; Al-Hamed et al., 2019). Por último, existem ainda as proteínas coagulantes (4%), em que se destaca o fibrinogénio que é o precursor da fibrina, uma proteína essencial para a coagulação sanguínea e muito importante para a produção de PRF. A matriz de fibrinogénio tem

benefícios regenerativos, pois a sua estrutura tridimensional tem capacidade de reter uma maior quantidade de células, fatores de crescimento e citocinas (Al-Hamed et al., 2019).

1.2. Leucócitos

Os leucócitos são células nucleadas de cor esbranquiçada essenciais, pois têm a função de defender o organismo de infecções provocadas por agentes invasores. Podem ser divididos de acordo com o seu tipo de grânulos, em granulócitos e agranulócitos. Os leucócitos granulócitos apresentam grânulos citoplasmáticos de grandes dimensões e por isso são mais visíveis ao microscópio. Pelo contrário, os agranulócitos exibem grânulos pequenos ou inespecíficos e não têm capacidade de reflexão da luz, por isso é mais difícil encontrá-los (Seeley, 2011). Classificamos como leucócitos agranulócitos os neutrófilos, basófilos e eosinófilos, e como leucócitos granulócitos os linfócitos e monócitos (Hall & Guyton, 2017).

A quantidade de leucócitos na corrente sanguínea de um adulto saudável varia de $4,5$ a $11,0 \times 10^9 / \mu\text{l}$, enquanto nos concentrados plaquetários a sua concentração pode variar de $0 / \text{ml}$, no plasma pobre em plaquetas (PPP), a $35,8 \times 10^9 / \mu\text{l}$ no PRF (Al-Hamed et al., 2019).

Os neutrófilos são os glóbulos brancos mais comuns no sangue (50 a 70%). Na corrente sanguínea têm uma vida média de 10-12 horas, mas podem permanecer vários dias no tecido conjuntivo, atuando nas fases iniciais da resposta inflamatória. A principal função dos neutrófilos consiste em fagocitar microrganismos e outras substâncias, e por esta razão são o constituinte major do exsudado infeccioso (Seeley, 2011).

Os eosinófilos existem em maior percentagem no sangue de pessoas com alergias (asma e reações adversas a fármacos), pois reduzem a resposta inflamatória através da produção de enzimas que destroem mediadores inflamatórios, como a histamina, ou ainda alguns parasitas (Hall & Guyton, 2017). Permanecem em circulação cerca de 3 a 8 horas, mas ao chegar a um tecido exercem a sua função por cerca de 8 a 10 dias (Seeley, 2011).

Os basófilos são os glóbulos brancos menos comuns. Os seus grânulos contêm peroxidase, histamina (promotora da inflamação) e heparina (inibidora da coagulação), que são proteínas responsáveis pela resposta inflamatória imediata a alérgenos, apesar de estarem também relacionados com a hipersensibilidade tardia (Seeley, 2011).

Os linfócitos correspondem a cerca de 20 a 40% dos leucócitos presentes na corrente sanguínea e podemos dividi-los em dois tipos: linfócitos B e T. Os linfócitos B produzem anticorpos quando detetam bactérias ou toxinas invasoras e os linfócitos T protegem o organismo contra os micro-organismos intracelulares atacando e destruindo as células onde estes se reproduzem. Os linfócitos T estão também muito associados à destruição de células tumorais ou rejeição de enxertos (Hall e Guyton, 2017). Apesar dos linfócitos não terem uma função direta durante a cicatrização, a sua resposta imunitária inata é essencial para a reparação dos tecidos (Al-Hamed et al., 2019).

Os monócitos apresentam uma grande quantidade de pequenos grânulos, os lisossomas, que contêm enzimas peroxidases, sulfatases e fosfatases ácidas. Os monócitos permanecem na corrente sanguínea entre 12 horas a 3 dias e após esse período penetram nos tecidos, onde se diferenciam e transformam em macrófagos. Os macrófagos têm como função fagocitar bactérias, células mortas, fragmentos e outros detritos (Seeley, 2011). Evidências científicas recentes indicam que os monócitos têm um papel importante no crescimento dos vasos sanguíneos e na regeneração óssea, devido à libertação de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) e de terem recetores de proteínas ósseas morfogénicas (BMP) (Ghanaati et al., 2014; Agrawal, 2017).

1.3. Eritrócitos

Os eritrócitos são células anucleadas com forma de disco bicôncavo. São constituídos essencialmente por hemoglobina (95%), proteína cuja principal função é o transporte de moléculas de oxigénio e dióxido de carbono. (Seeley, 2011). Os CPs podem ser preparados com ou sem incorporação de eritrócitos, no entanto não há evidência do efeito destas células na regeneração e reparação dos tecidos. Assim, o papel dos eritrócitos nos concentrados de plaquetas permanece desconhecido (Al-hamed et al., 2019).

1.4. Plaquetas

As plaquetas ou trombócitos são pequenas células anucleadas, provenientes da medula óssea, que se formam a partir de fragmentos do citoplasma de células de grandes dimensões, os megacariócitos (Al-hamed et al., 2019). Num adulto saudável existem cerca de 200000 ± 75000 plaquetas por μl de sangue, mas o valor considerado normal pode variar de 150000 a 450000 plaquetas / μl de sangue (Agrawal, 2017), de acordo com

a idade e o género da pessoa, sendo que os indivíduos mais jovens e as mulheres apresentam concentrações significativamente mais elevados (Marques et al., 2015). Estas moléculas permanecem em circulação apenas durante 7 a 10 dias, sendo removidas por fagocitose após este período (Seeley, 2011).

As plaquetas são moléculas de forma discoide que medem cerca de 2-3 μm e apesar de não terem um núcleo organizado e estruturado, são formadas por vários organelos incluindo mitocôndrias, microtúbulos, grânulos α , densos e lisossomas que lhes conferem diversas propriedades (Al-hamed et al., 2019).

As plaquetas promovem a coagulação do sangue e auxiliam nos processos de reparação das paredes dos vasos sanguíneos, evitando assim perdas de sangue através da formação do rolhão plaquetário. Logo desempenham funções no controlo da inflamação, hemostasia, angiogénese, migração de células-tronco, proliferação celular, e ainda se correlacionam com a resposta imune do hospedeiro, através da libertação de mediadores pró-inflamatórios, designadamente de citocinas, que participam nas fases iniciais de cicatrização (Al-hamed et al., 2019).

A ultra estrutura das plaquetas pode ser dividida em quatro zonas: a zona periférica, o hialoplasma, a zona dos organelos e o sistema de membrana. A zona periférica é constituída pela membrana plasmática, uma membrana lisa rica em glicoproteínas essencial para a adesão plaquetária às células subendoteliais, tal como para a ativação e agregação plaquetária. A zona dos organelos, situada no citoplasma, é constituída pelas estruturas secretoras: grânulos α , grânulos densos e lisossomas (Castro et al., 2006).

Os grânulos α são os organelos mais abundantes e com maiores dimensões, sendo que se apresentam sob forma redonda ou oval com um diâmetro de 200 a 500 nm e contêm cerca de 50–80 unidades por plaqueta. Os grânulos alfa são responsáveis pelo armazenamento de proteínas adesivas, como fibrinogénio, fibronectina, vitronectina ou trombospondina, bem como de fatores da coagulação, mediadores imunológicos e fatores de crescimento que são secretadas após a ativação plaquetária (tabela 1). Estas moléculas bioativas têm propriedades regenerativas ósseas, pois aumentam a osteogénese e a angiogénese (Guerrero, 2015; Al-Hamed et al., 2019).

Os grânulos densos apesar de serem menos representativos e mais pequenos do que os alfa, contêm igualmente fatores indispensáveis à coagulação, como o difosfato de adenosina (ADP), o trifosfato de adenosina (ATP), serotonina, histamina, polifosfato, pirofosfato, cálcio, magnésio e potássio. Verificou-se que o ATP aumenta a mineralização óssea em baixa concentração, mas diminui a mineralização óssea em concentrações altas. Por sua vez, os grânulos lisossomas, além de conterem ATP e ADP, participam nos processos metabólicos e armazenam enzimas degradantes e outras moléculas indispensáveis à função plaquetária (Al-Hamed et al., 2019).

1.4.1. Fatores de crescimento

Como suprarreferido, os grânulos das plaquetas são os responsáveis pela libertação de uma grande variedade de fatores de crescimento fundamentais para a regeneração tecidual, como o TGF- β (fator de crescimento transformador beta), o PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), o VEGF, o EGF (fator de crescimento epidérmico), o FGF (fator de crescimento dos fibroblastos) e o IGF-1 (Fator de crescimento de insulina – 1) (tabela 1) (Castro et al., 2006). Os FCs, desempenham um importante papel na quimiotaxia, proliferação, diferenciação celular, formação de matriz extracelular, osteogênese e prevenção da reabsorção óssea. As aplicações clínicas dos FCs são limitadas devido à instabilidade das proteínas, à curta duração de ação, necessidade de obter altas concentrações de FCs e preço elevado. É por isto que os CPs são alternativas muito práticas para usufruir dos benefícios dos CFs (Al-hamed et al., 2019).

Os efeitos a longo prazo da ativação plaquetária são devidos à expressão de mais de trinta fatores de crescimento (Castro et al., 2006).

Tipo de Fator de crescimento	Presente em	Função
PDGF	Plaquetas, células endoteliais, macrófagos, monócitos;	Estimula a produção de fibroblastos e de colagénio, a quimiotaxia, estimula o fator de crescimento transformador β

Tipo de Fator de crescimento	Presente em	Função
TGF β	Plaquetas, matriz, macrófagos/ monócitos e neutrófilos;	Estimula a proliferação indiferenciada de células mesenquimais; regula a replicação das células endoteliais, fibroblásticas e osteoblásticas; regula a síntese de colagénio, a partir de fibroblastos; controla a formação da matriz extracelular e viabilidade celular; estimula a quimiotaxia e angiogénese, inibe a proliferação de macrófagos e linfócitos
VEGF	Plaquetas	Promove a angiogénese e a permeabilidade dos vasos.
EGF	Plaquetas, macrófagos, monócitos	Promove a diferenciação celular, angiogénese e proliferação de células mesenquimais e epiteliais.
FGF	Plaquetas, macrófagos, células mesenquimais, fibroblastos	Promove o crescimento e a diferenciação de condrócitos e osteoblastos, replicação de células mesenquimais, produz colagénio; estimula a angiogénese, proliferação de mioblastos
IGF-1	Plaquetas	Estimula a proliferação dos osteoblastos, a quimiotaxia nos osteoblastos humanos, ocorre expressão aumentada de osteocalcinas; aumenta a cicatrização de tecidos

Tabela 1 - Fatores de crescimento presentes nos CPs e suas funções específicas (Dhurat & Sukesh, 2014).

1.5.Hemóstase

A hemóstase é o processo que visa o controlo da hemorragia (Seeley, 2011). A lesão de um vaso sanguíneo desencadeia nas plaquetas um conjunto de fenómenos que promovem a hemóstase: 1) Reparação do vaso sanguíneo; 2) Coagulação do sangue para evitar grandes perdas; 3) Libertação de enzimas lisossómicas para auxiliar na remoção do coágulo sanguíneo (Seeley, 2011; Guerrero, 2015).

Em condições fisiológicas as plaquetas são encontradas no sistema circulatório, no estado inativo, devido às prostaglandinas e outros fatores secretados pelas células endoteliais que inibem a ativação plaquetária (Seeley, 2011). Quando ocorre uma lesão vascular, as plaquetas são ativadas e o processo de hemóstase é iniciado. A primeira etapa é a vasoconstrição (figura 1 – A), ou seja, o encerramento imediato e temporário de um vaso sanguíneo, resultante da contração do músculo liso da parede do vaso (Seeley, 2011).

Numa segunda fase, ocorre a adesão das plaquetas ao tecido lesado (figura 1-B), onde é libertado o conteúdo dos seus grânulos, ou seja, os fatores de crescimento (figura 1 – C). São essas proteínas e fatores coagulantes libertados que permitem a agregação plaquetas/plaquetas (figura 1 – D) e estimulam as mitoses do endotélio do vaso sanguíneo (fator de crescimento plaquetário). Concomitantemente, provocam a diminuição do fluxo sanguíneo no local da lesão (serotonina), onde se inicia a reação em cascata para formar um coágulo a partir do fibrinogénio (figura 1 – E). Por fim, é induzido a retração do coágulo e a sua posterior remoção (Correa-Aravena et al., 2019).

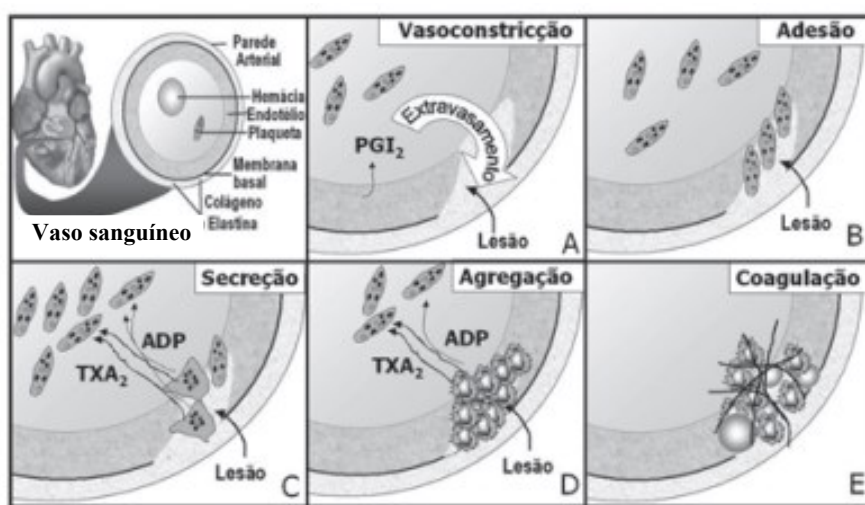


Figura 1 – Função das plaquetas no processo hemostático. A: Lesão do vaso com intervenção de agonistas plaquetários; B: Adesão das plaquetas ao subendotélio; C: Mudança de forma das plaquetas, e consequente secreção dos grânulos; D: Ligação plaqueta/plaqueta; E: depósito da fibrina sobre o coágulo. (Adaptado de Castro et al., 2006).

A secreção dos fatores de crescimento pelas plaquetas começa 10 minutos após a sua ativação, sendo que ao fim de 1 hora mais de 95% dos fatores de crescimento já terão sido libertados (Dhurat & Suresh, 2014). Aquando da ativação das plaquetas, os seus grânulos são também estimulados a libertar citocinas, capazes de estimular a migração e proliferação de células, iniciando desta forma as primeiras fases de cicatrização (Dohan et al., 2006).

1.6. Coagulação

O coágulo sanguíneo é constituído por uma rede de fibras proteicas filiformes, ou rede de fibrina, que se forma pela ação proteolítica da trombina (proteína coagulante) sobre o fibrinogénio. A formação da fibrina ocorre em minutos e deve-se a um mecanismo de *feedback* positivo do sistema hemostático, em que após a ativação das proteínas de coagulação presentes no plasma cada fator de coagulação estimula a ação do fator seguinte, conduzindo assim a reação até à sua conclusão (Guerrero & Ronsano, 2015; Hall, 2017).

O processo de coagulação divide-se em 3 fases: A fase I consiste na formação de protrombinase; fase II conversão da protrombina em trombina por ação da protrombinase; e fase III que compreende a conversão do fibrinogénio solúvel em fibrina insolúvel, por ação da trombina (Hall & Guyton, 2017). Dependendo da forma como a protrombinase é formada na fase I, podem ocorrer duas vias de coagulação: a via de coagulação extrínseca (desencadeada por fatores químicos extrínsecos ao sangue) e a via de coagulação intrínseca (desencadeada por fatores de coagulação intrínsecos ao sangue, que entram em contacto com o vaso danificado) (Seeley, 2011).

Os monómeros de fibrina polimerizam espontaneamente através de ligações de pontes de hidrogénio, quando o fibrinogénio entra em contacto com a trombina, formando uma larga malha de fibrina solúvel, onde estão encapsulados a trombina, a antiplasmina, o plasminogénio, e o ativador do plasminogénio tecidular. Uma vez que a trombina está assim protegida dos seus respetivos inibidores, consegue ativar o fator XIII e o cálcio, essenciais para a formação das ligações peptídicas entre os monómeros de fibrina, formando polímeros responsáveis pela estrutura insolúvel e resistente do coágulo. Se os níveis de fibrinogénio disponíveis no sangue forem baixos, o coágulo de fibrina será mais frágil e instável (Guerrero & Ronsano, 2015).

1.7. Cicatrização

As plaquetas são responsáveis pela velocidade de reparação da ferida, através da síntese e secreção de proteínas. À medida que a influência direta das plaquetas começa a diminuir, a quantidade de leucócitos começa a aumentar. Os leucócitos chegam através

da estimulação do fator de crescimento VEGF das plaquetas, assumindo o controle da cicatrização, através da secreção dos seus fatores de crescimento (Agrawal, 2017).

Os neutrófilos são os primeiros leucócitos a migrar para o local da inflamação, sendo posteriormente substituídos por monócitos/ macrófagos, devido à sua elevada capacidade fagocitária (Dohan et al. 2006).

O processo inflamatório e de cicatrização é controlado por um conjunto de citocinas. As três principais citocinas inflamatórias são a IL-1 β (Interleucina 1- β), IL-6 (Interleucina 6) e o TNF- α (Factor de necrose tumoral α). A IL-1 é um mediador chave para o processo de cicatrização; A IL-6 estimula o fator de diferenciação de linfócitos T, que por sua vez ativa as células T, estimula a secreção de imunoglobulinas, ativa os monócitos, estimula a função de remodelação de fibroblastos e aumenta a capacidade fagocítica dos neutrófilos; O TNF- α modula a expressão de IL-1 e IL-6 (Correa-Aravena et al., 2019).

As citocinas mais associadas ao processo de cicatrização são os VEGF e as IL-4 (Interleucina 4), que estimulam a diferenciação das células T e das células B ativas. Durante a inflamação a IL-4 estimula a cicatrização ao neutralizar os efeitos inflamatórios da IL-1. Por sua vez, o VEGF controla o comportamento das células endoteliais nos processos de proliferação, migração e diferenciação celular (Dohan et al. 2006).

2. Evolução Histórica dos Concentrados Plaquetários

Como suprarreferido, nas últimas décadas tem havido uma grande evolução e desenvolvimento dos concentrados plaquetários. Assim, é importante compreender o percurso evolutivo destes biomateriais, que descenderam dos selantes de fibrina e atualmente são mundialmente reconhecidos pelas suas propriedades cicatrizantes (Cieslik-Bielecka et al., 2012).

Em 1909, Bergel usou a fibrina pela primeira vez como coadjuvante clínico (Catelas, 2017) para controlar a hemorragia. Mas apenas na década de 1940, as colas de fibrina, fibrinogénio e trombina humanas começaram a ser produzidas em grande escala para fixar enxertos dermatológicos (Cieslik-Bielecka et al., 2012, Catelas, 2017). Após este período de desenvolvimento estas foram consideradas um produto de alto risco biológico, e entraram em desuso durante cerca de três décadas. Todavia, nos anos 70 é formulada a *Fibrinkleber Human Immuno*, a primeira cola de fibrina comercializada (Whitman et al., 1997).

Além do objetivo inicial de controlar a hemostasia, as colas de fibrina tornam-se um produto aliciante nas áreas de engenharia e medicina regenerativa (Catelas, 2017). Mas com as descobertas sobre a ativação plaquetária e o papel dos fatores de crescimento na regeneração tecidular, em 1990 as colas de fibrina são substituídas pelos concentrados plaquetários, biomateriais com protocolos mais simples e baratos (Whitman et al., 1997; Dohan et al., 2009; Borie et al., 2015; Agrawal, 2017).

Os CPs foram denominados PRP, o mesmo nome dado, nos anos 50, aos concentrados para transfusões sanguíneas, o que tornou complicada a distinção dos conceitos (Dohan et al., 2009).

Whitman et al., em 1997, introduziu pela primeira vez o PRP em cirurgia oral, com a finalidade de testar a hipótese de as plaquetas terem capacidade de “aprimorar” as propriedades das células osteoprogenitoras do osso hospedeiro e do enxerto ósseo. Nos anos seguintes, outros autores reconhecidos como Lindhe (1998) ou Marx (1998) estudaram o efeito dos fatores de crescimento das plaquetas na reparação e regeneração óssea *in vitro* e *in vivo*, ao qual obtiveram resultados promissores (Fioravanti et al., 2015; Agrawal, 2017). Desde então, o PRP começou a ser estudado em grande escala e utilizado

em várias especialidades médicas, principalmente cirurgia ortopédica, dermatologia ou cirurgia oral (Wroblewski et al., 2010).

Em 1999, introduz-se no mercado um novo concentrado de plaquetas, o plasma rico em fatores de crescimento (PRGF). Este novo conceito foi desenvolvido por Eduardo Anitua (BTI, Instituto de Biotecnologia) e consiste numa derivação do PRP original com maior concentração de FC (Anitua et al., 2004).

Devido às restrições legais associadas ao manuseamento de sangue, e com o objetivo de tentar diminuir as limitações técnicas do uso de PRP, no início do século XXI nasceu uma nova família de concentrados plaquetários desenvolvido pelo professor Choukroun em França, a fibrina rica em plaquetas e leucócitos vulgarmente chamado L-PRF. Este novo conceito não é nada mais do que uma modificação totalmente autóloga do PRP que elimina os possíveis riscos associados ao uso de anticoagulantes de origem animal (Choukroun et al., 2006).

A partir de 2006, o PRF começou a ter algum destaque na área da periodontologia, cirurgia oral e endodontia, devido aos sucessivos estudos de Choukroun e Dohan, o que despoletou o aparecimento de novas formulações de PRP e PRF (Tunali et al., 2014; Ghanaati et al., 2014; Agrawal, 2017; Grassia & Nucci, 2020).

3. Classificação dos concentrados plaquetários

Desde a introdução dos concentrados plaquetários no campo da cirurgia maxilofacial que surgiu uma ampla gama de novos concentrados plaquetários com protocolos de preparação, *kits* e centrífugas diferentes, mas com denominações semelhantes. No sentido de simplificar e distinguir os vários CPs surgiram várias propostas lógicas e sucintas de classificação, mas até hoje, nenhuma foi considerada a *gold-standard* pela comunidade científica (Dohan et al., 2009; Brucoli et al., 2018).

Dohan et al., em 2009, decidiu agrupar os concentrados plaquetários em 4 grandes grupos (P-PRP, L-PRP, P-PRF e L-PRF), de acordo com os seguintes parâmetros (tabela 2):

- A: Tipo de *kits* de preparação e centrífugas utilizadas, ou seja, definem as características práticas de cada técnica.
 - 1 - Tamanho e peso do tipo de centrífuga necessário para o método; 2 - Duração do procedimento (rápido: - de 20 minutos; muito longo: + de 1 hora); 3 - Custo (do equipamento e de cada material de uso único - reagentes e kits); 4 - Ergonomia do kit e a complexidade do procedimento.
- B: Refere-se ao conteúdo de plaquetas e leucócitos do CP, que permite definir a sua relevância farmacológica e indicar as possíveis aplicações.
 - 1 – Volume final de concentrado utilizável (depende do volume de sangue recolhido); 2 - Eficiência da colheita de plaquetas; 3 – Eficiência da colheita de leucócitos; 4 – Preservação das plaquetas e leucócitos da amostra de sangue.
- C: Refere-se à rede de fibrina que suporta o concentrado de plaquetas e leucócitos.
 - 1 - Densidade da rede de fibrina, determinada pela concentração de fibrinogénio; 2 - O processo de polimerização da fibrina, que depende das concentrações de fibrinogénio e trombina e que define as propriedades biomecânicas da rede de fibrina final.

Tipo	Definição	Protocolos	Custo	Duração	Volume obtido	Conteúdo leucócitos	Conteúdo plaquetas	Preservação	Densidade	Polimerização
Plasma Rico em plaquetas puro (P-PRP)	A preparação obtida não tem leucócitos e mostra uma rede de fibrina de baixa densidade (líquida). SÓLIDO (Gel)	Vivostat PRF	Caro	Longo	Reduzido	-----	Baixo	Não preservado	Baixa	Fraca
		Anitua PRGF	Barato	Longo	Variável	-----	Variável	Não preservado	Baixa	Fraca
		PRGF-Endoret	Caro	Muito longo	Reduzido	-----	Excelente	Desconhecida	Baixa	Fraca
Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos (L-PRP)	As preparações contêm leucócitos e mostram uma rede de fibrina de baixa densidade (líquida). SÓLIDO (Gel)	Plateltex	Caro	Longo	Bom	Elevado	Variável	Desconhecida	Baixa	Fraca
		Curasan Regen,								
		SmartPREP								
		PCCS	Caro	Longo	Bom	Elevado	Variável	Desconhecida	Baixa	Fraca
		Magellan								
Fibrina Rica em Plaquetas Pura (P-PRF)	A preparação obtida não apresenta leucócitos e a rede de fibrina é de alta densidade SÓLIDO (Gel)	Fibrinet	Caro	Longo	Amplo	-----	Boa	Preservação ativada	Alta	Forte
Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF)	O produto final é constituído por leucócitos, disposto numa rede de fibrina de alta densidade (SÓLIDO/LÍQUIDO) .	L-PRF [Choukroun]; A-PRF; i-PRF; L-PRF [Dohan]; T-PRF;	Muito barato	Rápido	Amplo	Boa/ Muito boa	Excelente	Boa Preservação	Alta	Forte

Tabela 2 - Classificação de concentrados plaquetários (adaptado de Dohan et al., 2009).

Apesar de na época ter sido considerada bastante completa, a classificação anterior acabou por revelar algumas falhas aquando do desenvolvimento dos novos L-PRFs. Face a este problema, em 2011 Mishra propôs uma outra classificação de CPs usados em Medicina Desportiva, com base na presença de leucócitos, concentração de plaquetas e no estado de ativação das mesmas. Esta classificação organizou os CPs também em 4 famílias diferentes, contudo, esta e as classificações que se seguiram não foram consensuais e apresentaram falhas quanto à incorporação do volume final da preparação, presença ou ausência de eritrócitos e de percentagem de plaquetas após preparação (Alves & Grimalt, 2018).

Posto isto, Magalon et al., 2016, propuseram a classificação DEPA, baseada na dose, eficiência, pureza e ativação das plaquetas. Embora esta última classificação seja mais completa, é bastante complexa, já que a medição de cada parâmetro não pode ser quantificada pelo médico no momento da aplicação clínica.

Nesta revisão narrativa, adotou-se o sistema de classificação sugerido por Dohan et al., 2009, com algumas adaptações devido ao aparecimento de novos CPs (tabela 2).

Dividimos genericamente os concentrados plaquetários em duas gerações, de acordo com as características biológicas e protocolos de preparação. Os concentrados de plaquetas de 1ª geração (PRP e P-PRF) foram os primeiros a surgir e evoluíram para os concentrados de 2ª geração (L-PRF). A principal diferença entre os dois assenta no facto de os CP de 2º geração não necessitarem da adição de anticoagulantes e coagulantes (trombina ou cloreto de cálcio) exógenos, o que resulta numa maior simplicidade da técnica (Caruana et al., 2019).

4. Concentrados Plaquetários de 1ª geração

Apesar da elevada diversidade de concentrados plaquetários de 1ª geração, todos os protocolos para a sua produção têm alguns pontos em comum: A amostra de sangue é recolhida imediatamente antes ou durante a cirurgia e é-lhe adicionado um anticoagulante; o sangue é centrifugado imediatamente após a colheita; a ativação plaquetária acontece com a adição de um coagulante após a centrifugação; o protocolo de preparação do CP, apesar de variável, é sempre realizado durante uma hora. Os restantes passos variam consoante o tipo de concentrado e de protocolo (Dohan et al., 2009).

4.1. Plasma rico em plaquetas (PRP)

O plasma rico em plaquetas é um produto derivado do sangue autólogo, composto essencialmente por plaquetas numa concentração 3 a 5 vezes superior à concentração na corrente sanguínea (em média 200.000/ μ l) (Lee et al., 2013).

O PRP é um material orgânico, não tóxico e não imunorreativo, que pode desempenhar um papel importante na aceleração da cicatrização, pois promove a libertação de fatores de crescimento e citocinas na ferida e assim, facilita e acelera o processo de regeneração tecidual (Simonpieri et al., 2012; Lee et al., 2013).

Nas preparações P-PRP e L-PRP a rede de fibrina é imatura, devido ao reduzido diâmetro das fibrilhas e à polimerização simples da fibrina. Esta rede suporta as plaquetas, mas devido à sua instabilidade acaba por dissolver-se rapidamente (Dohan et al., 2009).

A falta de padronização dos protocolos de preparação do PRP e a subsequente diversidade de produtos e formulações, associados à quantificação inconsistente e insuficiente dos componentes do PRP contribui para a variabilidade dos resultados clínicos (Wu et al., 2016). Vários estudos mostram que a composição celular do PRP e as suas características biomoleculares variam de acordo com o protocolo de preparação e sistema usado (Choukroun et al., 2006; Cieslik-Bielecka et al., 2012).

4.1.1. Plasma rico em plaquetas puro

O plasma rico em plaquetas puro é um concentrado plaquetário, constituído por uma rede de fibrina com plaquetas, proteínas plasmáticas e uma quantidade residual de eritrócitos (Choukroun et al., 2006).

Existem dois tipos de protocolos para produzir P-PRP: Os automatizados (plasmaferese e o vivostat PRF) e os manuais (PRGF de Anitua e PRGF-Endoret). Os métodos automatizados necessitam de uma centrífuga e de um separador celular (divisórias para separar os constituintes do sangue) e a recolha do sangue é realizada a um fluxo descontínuo, ou seja, o sangue do paciente é recolhido enquanto ocorre filtragem do mesmo. Este processo tem uma duração inconstante, pois só termina após se obter a quantidade desejada de plaquetas. Alternativamente pode ser utilizada uma bolsa de sangue anticoagulado, anteriormente recolhida. Embora o método plasmaferese seja um dos mais precisos do ponto de vista técnico, o seu uso diário em consultório é raro, devido à exigência da técnica (Dohan et al., 2009).

Por sua vez, os protocolos manuais apesar de serem mais simples, são menos precisos. O primeiro destes métodos foi descrito por Anitua em 1999, e segundo o seu protocolo o sangue deve ser recolhido e centrifugado em pequenos tubos aos quais se adiciona um anticoagulante, e após cada centrifugação os constituintes do sangue são separados, com a ajuda de uma pipeta a “olho” (Anitua et al., 2012).

4.1.2. Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos

O L-PRP é um tipo de concentrado plaquetário de baixa densidade e baixa concentração de fibrina, tal como o P-PRP, mas com incorporação de leucócitos. Esta pequena alteração é que o torna diferente, pois os leucócitos têm capacidade de acelerar a resposta imunitária do organismo (Dohan et al., 2009; Zhou et al., 2015).

Existem vários protocolos para a produção de L-PRP: Curasan, Friadent-Schütze, Regen e Plateltex. Todos além de serem bastante semelhantes entre si, são também com os protocolos manuais P-PRP, o que suscita, muitas vezes, dúvidas quanto ao concentrado plaquetário produzido.

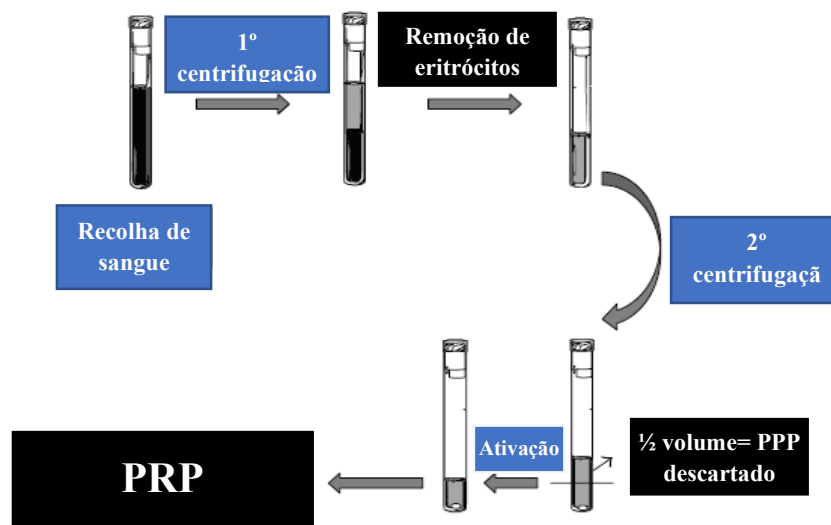


Figura 2 - Fluxograma representativo da preparação geral do PRP (Adaptado de Perez et al., 2014).

4.1.3. Protocolos PRP

Apesar da especificidade individual, todos os protocolos PRP seguem uma sequência genérica, que consiste resumidamente em 4 passos (figura 2):

1) Recolha de sangue

Segundo Anitua et al., 2012, normalmente são recolhidos entre 10 a 60 ml de sangue, dependendo do tipo e extensão da cirurgia a realizar. O sangue recolhido é posteriormente transferido para tubos que contêm um anticoagulante (frequentemente o citrato de sódio a 3,8%) e centrifugado (Perez et al., 2014).

2) 1ª centrifugação

A centrifugação é um dos processos mais utilizados na separação entre líquidos ou sólido-líquido, e baseia-se na aplicação de uma força centrífuga, de forma a separar os constituintes do sangue consoante a sua densidade e tamanho. Na preparação de CPs a centrifugação deve ser estéril, de forma a não produzir incongruências na separação dos eritrócitos e/ou leucócitos e promover o resgate das plaquetas sem nenhum tipo de dano ou lise das mesmas (Perez et

al., 2014). A preparação tradicional do PRP consiste numa centrifugação lenta, de forma a permitir que as plaquetas permaneçam suspensas no plasma enquanto os leucócitos e eritrócitos são deslocados para o fundo do tubo (Perez et al., 2014).

Os tubos com o sangue anticoagulado são centrifugados a rotação e o tempo específicos para cada protocolo. No caso de PRGF, a 1ª centrifugação ocorre durante 8 minutos a uma velocidade de 580G ou 1850rpm.

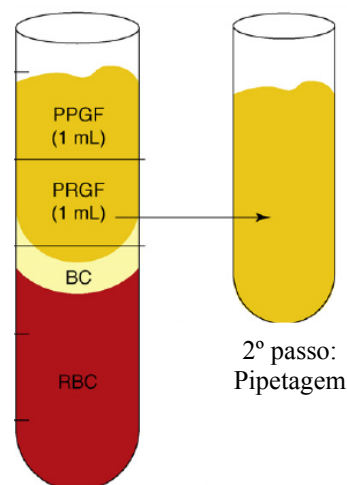


Figura 3 - Representação das diferentes camadas após a 1ª Centrifugação (Adaptado de Anitua et al., 2004).

Deste modo, na 1ª centrifugação ocorre a separação dos constituintes do sangue em 3 camadas principais (figura 3), de acordo com a sua densidade (Anitua et al., 2004):

- Na camada mais inferior encontram-se os glóbulos vermelhos (RBC), que são os constituintes mais pesados;
- Na camada intermédia observa-se uma zona fina e esbranquiçada, a chamada "*buffy coat*" (BC), constituída por leucócitos;
- A camada superior, de cor amarelada, é constituída pelo plasma e subdivide em duas frações: a inferior, constituída essencialmente por plaquetas; e a superficial, constituída por plasma acelular, chamado de PPP (plasma pobre em plaquetas ou plasma pobre em fatores de crescimento).

3) 2ª Centrifugação

Segundo Dohan et al. (2009) é através da 2ª centrifugação que se distingue o P-PRP do L-PRP.

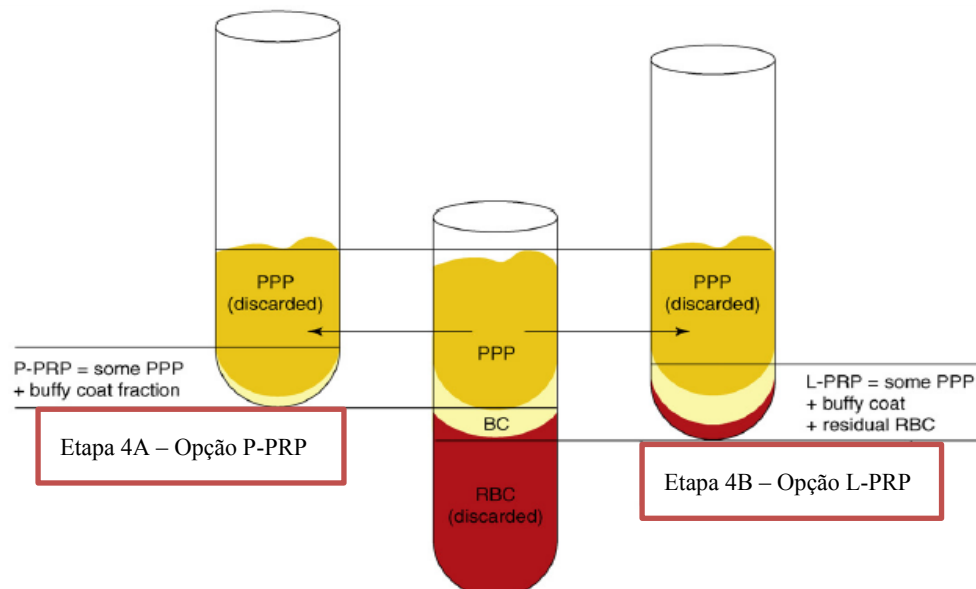


Figura 4 – 2ª centrifugação dos protocolos de P-PRP ou L-PRP (Adaptado de Anitua et al., 2004)

Para produzir PRGF ou qualquer outro P-PRP, pipeta-se para um novo tubo apenas a camada superior, constituída por plasma e plaquetas (figura 4 A). Por sua vez, para produzir L-PRP, além da camada de plaquetas e plasma também a camada BC é pipetada para um novo tubo (figura 4B). Após pipetagem, os novos tubos estão prontos para sofrer 2ª centrifugação.

A 2ª centrifugação tem como objetivo depositar os constituintes major dos PRPs no fundo do tubo, separando-as da camada de PPP que fica átona. Posteriormente a camada de PPP é descartada e formam-se concentrados de plasma ricos em plaquetas e pobres em fibrina (Anitua et al., 2004).

4) Ativação

Por último, é adicionado um coagulante, trombina e/ou cloreto de cálcio a 10% (para o protocolo Anitua, pois a percentagem pode variar entre protocolos).

Após 15 a 20 minutos, forma-se um gel PRP instável. Esta última etapa desencadeia a ativação plaquetária e consequente polimerização de fibrina, que é fraca nos PRPs (tabela 2).

Os PRPs devem ser preparados no momento de utilização, pois 10 minutos após a ativação do gel 70% dos seus fatores de crescimento foram libertados, e ao fim de 1 hora a percentagem sobe para os 100%. No entanto, a ação dos fatores de crescimento nos tecidos pode prolongar-se até 10 dias (Paulo et al., 2016).

Os principais constrangimentos destes protocolos são a falta de ergonomia e difícil reprodutibilidade do procedimento, pois as etapas de transferência entre tubos são geralmente executadas com uma seringa ou pipeta, medida a olho (Corso et al., 2012).

4.1.4. Fibrina rica em plaquetas pura

O P-PRF é um concentrado plaquetário, formado por uma densa matriz de fibrina e sem presença de leucócitos. Existe apenas um protocolo disponível para a sua produção, o Fibrinet PRFM (Platelet-Rich Fibrin Matrix, Cascade Medical, Wayne, NJ, USA). Este protocolo é constituído por um *kit* com dois tubos, um para recolha de sangue e outro para coagulação do mesmo, associados entre si por dispositivo de ligação para que possa ocorrer transferências (Dohan et al., 2009).

4.1.4.1. Protocolo P-PRF

- 1) Recolha de sangue: uma pequena quantidade de sangue (tipicamente 9 mL) é aspirada para um tubo de recolha, que contém acetato de cálcio trissódico (anticoagulante) e um gel separador.
- 2) 1ª centrifugação: o sangue recolhido é centrifugado a alta rotação durante seis minutos, obtendo-se um preparado onde podemos distinguir as 3 camadas típicas (RBC, BC e PPP).
- 3) 2ª centrifugação: as camadas BC e PPP são transferidas para um segundo tubo contendo CaCl_2 e centrifugadas durante 15 minutos. É nesta fase que se dá a coagulação para obter um coágulo P-PRF estável (Natto & Green, 2017).

A empresa detentora do método alega que o sistema produz um concentrado de plaquetas "natural" devido à ausência de trombina bovina. No entanto, este argumento é dúbio, pois o sangue é submetido à presença de um anticoagulante e posteriormente de um coagulante (Dohan et al., 2009).

A ativação plaquetária e a polimerização de fibrina são acionadas usando cloreto de cálcio, tal como nos protocolos PRPs. Contudo, a matriz de fibrina no protocolo P-PRF é mais densa e mais estável que a dos PRP originais, provavelmente devido à coagulação dinâmica durante a 2ª centrifugação, que é mais eficiente do que uma polimerização estática de PRP. Neste método a eficiência da recolha de plaquetas é alta e a sua preservação durante o procedimento parece aceitável, porém o processo é complexo e caro (Dohan et al., 2009).

5. Concentrados Plaquetários de 2ª geração

Os concentrados de plaquetas de 2ª geração foram desenvolvidos por Choukron em 2001, e diferenciam-se dos concentrados de 1ª geração por não necessitarem de manipulação bioquímica do sangue (Dohan et al., 2009). Como não são adicionados anticoagulantes, a maioria das plaquetas são ativadas poucos minutos após o contacto com as paredes do tubo de recolha do sangue (revestido de sílica ou vidro), o que leva ao imediato início da cascata de coagulação (Tunali et al., 2014).

É a ausência de anticoagulantes que permite a formação de um denso coágulo de fibrina. Por este motivo, inicialmente os CPs apenas eram aplicados sob forma de um gel ou coágulo (não injetável). Mas recentemente, com o avanço tecnológico da engenharia tecidual passou a ser possível produzir e aplicar também PRFs injetáveis (i-PRF) (Castro et al., 2017).

Além das características biológicas mencionadas, também a arquitetura 3D da matriz de fibrina fornece benefícios à membrana PRF que a distingue dos CPs de 1ª geração, tais como elevada densidade, elasticidade, flexibilidade e resistência, propriedades que facilitam a sua manipulação e sutura (Hartshorne, 2016).

Outra diferença e grande vantagem reside no facto dos protocolos L-PRFs sofrerem apenas uma única centrifugação. Assim, não há necessidade de descartar constituintes do sangue manualmente como acontece nos protocolos PRP, o que garante uma maior precisão e reprodutibilidade da técnica (Dohan et al., 2009).

5.1. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos

O L-PRF é caracterizado como uma rede de fibrina de alta densidade, onde se depositam 95% das plaquetas e 50% dos leucócitos recolhidos do sangue, sendo por isso considerado um material bioativo, que estimula a diferenciação e proliferação de células tronco e células progenitoras (Dohan et al., 2006; Ozcan et al., 2017).

O L-PRF não se dissolve rapidamente, em vez disso a matriz de fibrina é lentamente remodelada, como se de um coágulo sanguíneo se tratasse. Assim, a semi-vida das citocinas aumenta e a libertação dos fatores de crescimento dá-se de forma mais lenta, durante 7 a 10 dias (Choukroun et al., 2006).

Pensa-se, aliás, que a sua composição rica em plaquetas e leucócitos leva a uma migração e proliferação celular mais eficientes e, portanto, a uma cicatrização mais rápida e homeostasia mais controlada (Bahammam, 2018).

5.1.1. Fibrina rica em plaquetas preparada com titânio

Em 2014, Tunali et al. introduziu um novo concentrado plaquetário, denominada fibrina rica em plaquetas preparada com titânio (T-PRF).

Durante os procedimentos de preparação do L-PRF, Tunali e a sua equipa interessam-se pelos possíveis riscos que as partículas de sílica presentes nos tubos de recolha do sangue, poderiam criar no organismo. Devido ao seu tamanho é quase certo que algumas partículas de sílica sejam incorporadas no preparado plaquetário (Tunali et al., 2014).

O método T-PRF foi baseado na hipótese de que o titânio, para além de ser mais biocompatível e ter um tamanho de partículas superior, é mais eficaz na ativação de plaquetas do que os ativadores de sílica. Segundo os resultados do estudo de Tunali et al., 2014 e de Arabaci & Albayrak, 2018, a ativação plaquetária no T-PRF parece intensificar algumas vantagens e características da membrana PRF, nomeadamente o aumento da espessura da matriz de fibrina, que supostamente potencia a sua estabilidade.

5.1.2. Fibrina rica em plaquetas avançada

Com o objetivo de otimizar a concentração de células plaquetárias, bem como de leucócitos surgiu em 2014 um novo concentrado de fibrina, denominado fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF). O protocolo A-PRF é semelhante ao L-PRF, diferindo apenas nos termos de centrifugação: as rotações por minuto diminuem (1500 rpm) e o tempo de centrifugação aumenta (14 minutos), o que resulta numa maior concentração de neutrófilos (monócitos) na parte distal do coágulo de fibrina (Ghanaati et al., 2014; Sousa et al., 2020).

Esta novo CP tem surtido algum interesse na comunidade científica, pois é sabido que os monócitos desempenham um papel vital na angiogénese e regeneração óssea por serem uma fonte de fatores de crescimento VEGF e BMPs (Ghanaati et al., 2014).

5.1.3. PRF injetável

No sentido de obter uma forma líquida do L-PRF surgiu o i-PRF (ou solução de fibrinogénio). Este CP é obtido através de velocidades de centrifugação muito baixas (700 rpm) e tempos de *spin* muito curtos (3 minutos nas mulheres e 4 minutos nos homens) (Miron et al., 2017). O protocolo de produção do i-PRF exige que os tubos de recolha e preparo do sangue não sejam revestidos de sílica ou titânio para impedir a imediata formação do coágulo de fibrina. Assim, apenas quinze minutos após centrifugação é possível observar o início da polimerização da fibrina. Posto isto, o i-PRF está pronto a ser usado, somente 20 minutos após centrifugação (Mourão et al., 2015).

Segundo Miron et al., 2017, os benefícios do i-PRF devem-se à otimização da incorporação de fatores de crescimento, pois mesmo após 10 dias da aplicação do i-PRF continuam a ser libertados FC. Outra vantagem muito enriquecedora do i-PRF é a possibilidade de combinar o L-PRF com outros biomateriais (Choukron & Ghanaati, 2017), nomeadamente enxertos ósseos para formular *sticky bone*, um conceito bastante interessante em regenerações ósseas (Mourão et al., 2015).

Recentemente, através das alterações dos protocolos de centrifugação A-PRF ou i-PRF surgiu um concentrado plaquetário incomum, de aspeto gelatinoso. Este PRF é preparado a baixas rotações (1200 rpm) durante um curto período (5 minutos), e podemos caracterizá-lo como i-PRF sólido ou A-PRF líquido. Esta inovação é recente e, por isso, ainda não se conhecem estudos que a avaliem, todavia, já existiam protocolos A-PRF com um tempo de centrifugação mais curto (8 minutos) e com resultados clínicos favoráveis. Mas a maior vantagem deste CP parece ser a viscosidade e elasticidade do coágulo, o que facilita a sua adaptação em cirurgias orais principalmente quando combinado com enxerto ósseo (Choukroun & Ghanaati, 2017, Fujioka-Kobayash, 2017).

5.1.4. Protocolo L-PRF

A qualidade da membrana L-PRF e o sucesso do tratamento dependem da rápida recolha de sangue e transferência para a centrífuga, da utilização de um protocolo de preparação padronizado, da maturação do coágulo e, ainda, da conservação da membrana antes de ser usada (Hartshorne, 2016).

Segundo o protocolo original de Choukroun (2001), a produção de L-PRF é um processo simples, realizado apenas em 3 passos: recolha, centrifugação e preparação, e são necessárias uma centrífuga, uma agulha butterfly 21 ou 24G e tubos de colheita de sangue de 9 ou 10 ml. – Anexo 1 (Hartshorne, 2016).

- 1) **Recolha de sangue** – Imediatamente antes da cirurgia, recolhem-se amostras de sangue, por punção venosa, normalmente da veia antecubital, com a ajuda de uma agulha *butterfly*. Por norma, cada tubo de recolha tem um volume de 10 ml, podendo recolher-se até 8 tubos por centrífuga. De seguida, os tubos com o sangue são imediatamente (ou no máximo 2 minutos após colheita) colocados na centrífuga.

O sucesso clínico do protocolo de PRF depende de uma rápida colheita de sangue e da sua transferência para a centrífuga, uma vez que o sangue começa a coagular automaticamente após 1-2 minutos. Se tal acontecer, torna-se difícil manter as qualidades do coágulo de PRF, pois ocorre a polimerização difusa da fibrina, formando-se um pequeno coágulo de fibrina de consistência irregular.

- 2) **Centrifugação** - Os tubos devem ser colocados na centrífuga de forma balanceada, para equilibrar as forças de centrifugação e evitar vibrações. No protocolo PRF de Choukroun (protocolo padrão) a centrífuga trabalha a 3000 rpm durante 10 minutos. No entanto, hoje existem variadíssimos protocolos reconhecidos de centrifugação para além do original: L-PRF (Dohan), A-PRF e i-PRF (tabela 3).

Quando o sangue entra em contato com a parede do tubo as plaquetas são ativadas, o que leva ao início da cascata de coagulação.

Para cumprir os *timings* corretos devemos colocar sucessivamente os tubos 2 a 2 na centrífuga durante 2 minutos, até termos todos os tubos que necessitamos. Existem vários protocolos utilizados atualmente (tabela3).

Protocolos	Velocidade (rpm)	Tempo (min)
L-PRF (Choukroun)	3000 (≈700g)	10
L-PRF (Dohan)	2700	12
A-PRF	1500	14
i-PRF	700	3

Tabela 3 - Protocolos de centrifugação para a preparação de diferentes formas de PRF (Adaptado de Sousa et al., 2020).

Atualmente sabe-se que forças de centrifugação mais baixas originam concentrados plaquetários com uma maior quantidade de neutrófilos e podem incorporar uma maior quantidade de plaquetas e granulócitos no coágulo de fibrina, o que prolonga a libertação de fatores de crescimento (Ghanaati et al., 2014).

Quando a centrifugação termina, obtém-se um preparado separado em três camadas distintas, consoante as densidades dos seus compostos: um plasma acelular no topo do tubo; um coágulo de fibrina fortemente polimerizada com plaquetas e leucócitos no meio; e no fundo do tubo um aglomerado de outras células sanguíneas (essencialmente eritrócitos). No final da centrifugação, os tubos são colocados num porta-tubos e as tampas dos tubos L-PRF ou A-PRF (não i-PRF) são removidas. O preparado é deixado em repouso para amadurecer durante aproximadamente 4-8 minutos.

- 3) **Preparação** – De seguida prepara-se o PRF, ou seja, isola-se o coágulo de fibrina com plaquetas e leucócitos.

Para tal, remove-se, com uma pinça estéril, o coágulo de fibrina (de consistência elástica e mole) do tubo, e com a ajuda de uma tesoura estéril raspa-se 2 mm abaixo da transição Coágulo/RBC, de forma a separar a camada de eritrócitos do coágulo de fibrina. A seção do coágulo sanguíneo anexado ao coágulo de fibrina contém as células-tronco, daí ser tão importante raspar um pouco mais abaixo da transição.

De seguida, colocam-se os coágulos L-PRF (ou A-PRF) numa caixa de compressão, que é cobertoacom uma tampa, durante pelo menos 2 minutos. Este passo tem como objetivo espremer o soro do coágulo, evitar a desidratação ou morte dos leucócitos e prevenir a contração da matriz de fibrina (Femminella et al., 2016, Hartshorne, 2016). A caixa de compressão do PRF tem 2 divisórias, uma plana para formar as membranas retangulares (figura 5) e outras cilíndricas, para formar plugs ou tampões de fibrina, ou seja, membranas cilíndricas ideais para aplicar em alvéolos pós extração dentária, para preservar a crista alveolar.

Deste modo, são obtidas membranas de L-PRF com uma espessura média de 1 a 1,5 mm (figura 5). Uma membrana L-PRF permanece utilizável algumas horas após a preparação, desde que devidamente preparada e conservada em condições fisiológicas (Choukroun et al., 2012).



Figura 5 – Coágulo de PRF após centrifugação e preparação. A zona inferior (adjacente à camada de eritrócitos) é a mais rica em plaquetas e células mesenquimatosas (figura gentilmente cedida pela Mestre Filipa Passos Sousa).

5.1.5. Protocolo de produção PRF com enxerto ósseo (*Sticky bone*)

Para produzir *sticky bone* é necessário preparar i-PRF e L-PRF. Após recolha de sangue, os tubos L-PRF e i-PRF são centrifugadas, simultaneamente, a 700 rpm durante 3 minutos. Após esse período os tubos i-PRF são retirados da centrífuga, enquanto os tubos L-PRF são submetidos a nova centrifugação a 2700 rpm durante cerca de 10 minutos. Terminado o processo de centrifugação do i-PRF, aspira-se o fibrinogénio (não polimerizado) do tubo, com a ajuda de uma seringa de 18 ou 21 G, e coloca-se o mesmo

numa taça ou godé. Após acabar o período de centrifugação preparam-se as membranas L-PRF (como descrito acima). Em seguida, as membranas já preparadas são cortadas em pequenos segmentos, por intermédio de uma tesoura, e adicionam-se ao de preparado i-PRF, tal como o biomaterial ósseo (figura 6A). De seguida, mexe-se todo o combinado durante alguns minutos, para que todos os biomateriais se vão aglomerando. O rácio recomendado é de 0,5 g de biomaterial por 2 membranas de L-PRF. Passados uns minutos, forma-se um bloco de enxerto ósseo, PRF e fibrinogénio, de consistência elástica o que permite a sua manipulação (figura 6-B) (Agrawal, 2017).

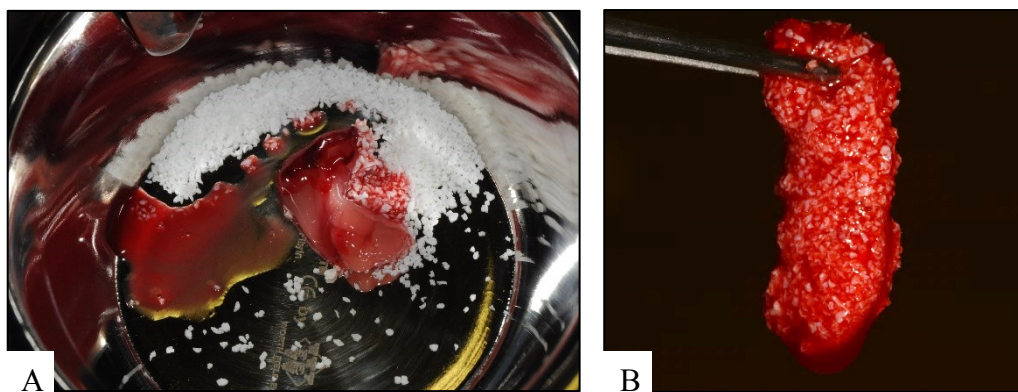


Figura 6 – Produção de *sticky bone*. A – Pode distinguir-se os vários constituintes: i-PRF, membrana L-PRF e enxerto ósseo; B – Membrana de *sticky bone* (figuras gentilmente cedida pelo Prof. Doutor Ricardo Alves)

5.1.6. Comparação PRF e PRP

Vários estudos tentaram comparar e avaliar os mecanismos biológicos dos PRFs e PRPs *in vitro*. Miron et al., 2017, realizaram um estudo com o objetivo de quantificar e comparar a libertação dos fatores de crescimento das membranas P-PRP, L-PRF e A-PRF, e concluíram que os concentrados de 2º geração (L-PRF e A-PRF) libertam uma maior quantidade de fatores de crescimento ao longo dos 10 dias de pós-operatório. Por sua vez, Miron, Zucchelli, & Choukroun, 2017, analisaram a alteração da concentração de alguns FC ao longo do tempo e concluíram que num momento inicial (15 minutos) o PRP liberta quantidades significativamente mais elevadas de FC, contudo após 60 minutos os resultados invertem e a libertação dos FC pelo PRF passa a ser mais elevada, mantendo-se assim ao longo do tempo. Embora não tenham sido detetadas diferenças

entre o L-PRF e o A-PRF até ao 3º dia, a partir desse momento o A-PRF apresentou sempre maior concentração de FC libertados.

Segundo Dohan et al., 2014, o P-PRP e L-PRF apresentam perfis muito diferentes: a membrana de L-PRF permanece intacta e sólida após 7 dias, libertando uma grande quantidade de fatores de crescimento, por sua vez o gel de P-PRP libertou a maior parte dos seus fatores de crescimento durante as primeiras horas e dissolveu-se completamente após três dias, mesmo após uma indução artificial da polimerização da matriz de fibrina.

Uma visão geral da literatura permite concluir que os L-PRFs são os concentrados plaquetários mais favoráveis e aconselháveis para usar em Medicina Dentária, pois adaptam-se às necessidades da cirurgia oral e maxilofacial, por terem protocolos mais simples, económicos, rápidos e práticos. O produto obtido é totalmente autólogo e não apresenta qualquer risco de contaminação ou rejeição. Por outro lado, o PRP também está mais indicado em situações com necessidade imediata de FC, ao invés do PRF é mais adequado para situações que exigem uma libertação de FC mais prolongada (Dohan et al., 2009; Dohan et al., 2014).

6. Aplicações de Concentrados Plaquetários em Periodontologia

A doença periodontal é uma patologia inflamatória que leva à destruição do periodonto e do osso alveolar e, quando não tratada pode levar a uma perda progressiva do nível de inserção e, eventualmente, conduzir à perda precoce dos dentes (Lindhe, 2015). A finalidade do tratamento periodontal, quer cirúrgico quer não cirúrgico, consiste em melhorar a saúde dos tecidos e estruturas periodontais. No sentido de desenvolver um biomaterial regenerativo que regule a inflamação, diminua a morbidade, a dor e consecutivamente otimize a cicatrização das feridas, os concentrados de plaquetas e fatores de crescimento têm vindo a atrair muita atenção nas últimas décadas (Verma et al., 2017).

Atualmente estão descritas inúmeras aplicações clínicas dos concentrados plaquetários em periodontologia, em procedimentos de cirurgia regenerativa periodontal, no tratamento de defeitos infra-ósseos (DIO) ou defeitos de furca, ou em cirurgia plástica periodontal, no tratamento de recessão gengival ou cicatrização de tecidos moles após recolha de enxerto de tecido conjuntivo (ETC) e enxerto gengival livre (EGL) (Correa-Aravena et al., 2019).

A reparação do tecido é um processo complexo que envolve uma organização estruturada de células, fatores bioquímicos e síntese de nova matriz extracelular. O papel das plaquetas na hemostasia e na cicatrização de feridas superficiais já está bem estabelecido, mas o mecanismo exato de cicatrização em profundidade não. Após uma cirurgia periodontal, a cicatrização da ferida ocorre por meio de uma interação complexa entre fibroblastos gengivais, células do ligamento periodontal, osteoblastos e células epiteliais, que são controlados por mediadores bioquímicos, as citocinas e os fatores de crescimento (Verma et al., 2017).

Após uma pesquisa bibliográfica nas plataformas *PubMed/Medline*, *Scielo* e *Cochrane* foram selecionados 38 ensaios clínicos randomizados (RCT) publicados nos últimos 10 anos, que relacionam os vários concentrados plaquetários com as aplicações em Periodontologia. Destes, 17 RCTs relacionam a eficácia dos CPs em Cirurgia Plástica Periodontal, e os restantes 21 RCTs relacionam a eficiência dos CPs em Cirurgia Regenerativa Periodontal.

6.1. Concentrados Plaquetários em Recobrimento Radicular

Segundo Agarwal et al. (2016), o objetivo da cirurgia plástica periodontal baseia-se em conciliar os melhores resultados clínicos com técnicas cirúrgicas minimamente invasivas que proporcionem a melhor cicatrização e conforto pós-operatório ao paciente. Neste sentido, existem atualmente, diversas técnicas para substituir os tecidos perdidos e promover um recobrimento radicular, mas a utilização de enxertos autógenos continua a apresentar resultados muito satisfatórios na maioria das recessões passíveis de tratamento, sendo o ETC ainda considerado o *gold standard* para obter recobrimento radicular total (Kuka et al., 2018). Por sua vez, o EGL continua a ser o mais indicado quando se pretende aumentar a banda de gengiva queratinizada, apesar de ser considerado inestético, uma vez que a zona recetora adquire a cor da zona dadora.

Em alternativa aos enxertos autógenos surgiram os concentrados de plaquetas e fatores de crescimento, sendo o L-PRF o mais usado, que possibilitam uma cicatrização mais rápida e consequente menos zonas cirúrgicas na cavidade oral (Choukroun et al., 2006). Posto isto, existem sumariamente três tipos de abordagens diferentes para alcançar o recobrimento radicular: enxertos autógenos, retalho de reposicionamento coronal (RAC) e ou combinação de RAC com enxertos gengivais ou com biomateriais modificadores da raiz, como proteínas da matriz de esmalte (PME), matriz dérmica acelular, plasma rico em plaquetas (PRP) ou fibrina rica em plaquetas (PRF) (Grupta et al., 2015). A escolha da técnica cirúrgica para recobrir raízes depende do tipo de recessão (isolada ou múltipla), da qualidade dos tecidos na zona subjacente à recessão e da profundidade do vestíbulo (Bahammam, 2018).

Com o objetivo de retirar algumas conclusões principais sobre a influência dos concentrados plaquetários no tratamento de recessões gengivais múltiplas RT1 (Classe I e II de Miller), após cirurgia de recobrimento radicular, foram analisados 10 RCTs (tabela 4) publicados na última década.

Os parâmetros clínicos avaliados foram a profundidade de sondagem (PS), o nível de inserção clínica (NIC) a largura do tecido queratinizado (LGQ), a espessura gengival (EG), o nível de dor/desconforto, a percentagem de recobrimento radicular (RR) e a percentagem de recobrimento radicular completo obtido (RRC). Dependendo dos estudos, os parâmetros foram avaliados antes e após cirurgia (aos 3, 6, 9 ou 12 meses).

O estudo realizado por Gupta et al., 2015, com o objetivo de determinar a eficácia clínica de membranas L-PRF em cirurgias RAC (figura 7), no tratamento de recessões gengivais isoladas RT1, concluiu que a membrana PRF não tem benefícios neste tipo de cirurgia. Após 6 meses de avaliação, os autores verificaram que a percentagem média de recobrimento radicular no grupo L-PRF+RAC foi de $91,00 \pm 19,98\%$ e no grupo RAC de $86,60 \pm 23,83\%$. Todos os defeitos mostraram melhorias significativas nos parâmetros de redução de PS, aumento do NIC, e aumento de LGQ aos 3 e 6 meses de pós-operatório, no entanto não foram observadas diferenças significativas intergrupos. Após 6 meses a maioria das feridas avaliadas pela cor, contorno e integração de textura, apresentaram excelente cicatrização e não foram detetadas reações adversas, como dor, inchaço, hipersensibilidade ou vermelhidão nos dois grupos. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Thamaraiselvan et al., 2015, onde 6 meses após as cirurgias, a percentagem média de RR obtida no grupo L-PRF+RAC foi de $74,16 \pm 28,98\%$ e no grupo RAC foi de $65,00 \pm 44,4\%$, e a percentagem de RRC foi de 50% em ambos os grupos, mas a combinação de RAC com PRF contribuiu para aumentar a espessura gengival (EG).

Por outro lado, o estudo Padma et al., 2013, concluiu que a membrana L-PRF favorece o RR ao longo dos 6 meses de pós-operatório, sendo que a percentagem de RR obtida no grupo L-PRF+RAC foi de $34,58 \pm 15,84\%$, $70,73 \pm 21,24\%$ e 100% aos 1,3 e 6 meses após cirurgia respetivamente, enquanto a obtida no grupo RAC foi de $31,15 \pm 20,53\%$, $61,46 \pm 19,56\%$ e $68,44 \pm 17,42\%$ aos 1,3 e 6 meses. Este estudo também mostrou que para além de benefícios de RR, a membrana L-PRF também apresenta benefícios na diminuição de LGQ e aumento de NIC ($4,75 \pm 0,77\text{mm}$ no início do estudo para 1,00 aos 6 meses vs. $2,44 \pm 0,77\text{mm}$ no início do estudo para $2,00 \pm 0,89\text{mm}$ aos 6 meses). Por sua vez, Agarwal et al. (2016) compararam a eficácia do RAC combinado com membrana de L-PRF, com RAC combinado com membrana amniótica (MA) e com RAC isoladamente e verificaram que quer o L-PRF+RAC quer a MA+RAC apresentam melhores resultados que o RAC isoladamente. A redução da recessão foi superior no grupo L-PRF+RAC, com valores médios de $1,47 \pm 0,92\text{ mm}$ (56%); seguido da MA+RAC com um valor médio de $0,67 \pm 1,23\text{ mm}$ (36%), e por último o grupo RAC onde o valor médio foi de $0,60 \pm 1,06\text{ mm}$ (33%). Curiosamente, apesar de se tratar de recessões classe I e II de Miller, só foi obtido RRC em 33.3% das localizações do grupo L-PRF+RAC e em 26.6% das localizações do grupo MA+RAC.

Para sustentar os resultados suprarreferidos, analisou-se a metanálise efectuada por Castro e colaboradores (2017), que concluiu que o grupo L-PRF+RAC apresenta resultados clínicos mais favoráveis do que o grupo RAC: PS (diferença média: 0,2 mm), ganho de NIC (diferença média: 0,4 mm), ganho LGQ (diferença média: 0,3 mm), espessura do tecido (diferença média: 0,2 mm), redução da profundidade de recessão (diferença média: 0,6 mm) e cobertura radicular em 6 meses (diferença média: 9,6%,).



Figura 7 – Tratamento de recessão gengival RT1 múltipla com recurso a um retalho de reposicionamento coronal (RAC) e membrana de PRF (figura gentilmente cedida pelo Prof. Doutor Ricardo Alves).

O estudo de Rajaram et al., 2015 teve como objetivo avaliar o efeito do PRF na técnica microcirúrgica retalho de rotação lateral (RRL) 12 e 24 meses após o procedimento cirúrgico. Apesar das limitações do estudo os autores concluíram que a adição de PRF não proporciona benefícios clínicos para o recobrimento radicular, sendo que a percentagem de RR média obtida no grupo L-PRF+RRL foi de 80% e no grupo RRL foi de 78,8%.

Vários RCTs também compararam a efetividade clínica da técnica cirúrgica de RAC combinado com membranas PRF com a técnica padrão ETC, como é o caso do estudo de Öncü (2017). Neste estudo, que durou 6 meses, e contou com a participação de 20 pacientes e um total de 60 recessões gengivais, o autor concluiu que ambos os procedimentos (PRF+RAC e RAC+ETC) proporcionaram resultados clínicos satisfatórios, o que levou a considerar ambas como boas técnicas para o tratamento das recessões gengivais. De acordo com os resultados não houve diferenças significativas

entre os grupos no que diz respeito a morbidade pós-operatória, contudo complicações como dor, edema e sangramento foram observadas no grupo RAC+ETC durante a primeira semana de pós-operatório. Esta diferença pode ser justificada pelas vantagens cicatrizantes e anti-inflamatórias dos CPs, não esquecendo ainda que os pacientes deste estudo não foram medicados com qualquer tipo de analgésico ou antibiótico, o que torna o estudo mais autêntico e os seus resultados mais fiáveis. Por sua vez, a percentagem média de RR obtida foi mais satisfatória no grupo ETC+RAC (84%) relativamente ao grupo L-PRF+RAC (77,12%) tal como a percentagem de RRC obtida, que foi de 60% no grupo ETC+RAC e de 50% no grupo L-PRF+RAC. Por outro lado, os estudos de Eren et al., 2016, e Tunali et al., 2015, apresentaram resultados percentuais médios de RR, redução de PS, ganho de NIC e LGQ aos 6 meses de avaliação, semelhantes nos grupos de estudo L-PRF ou ETC. Assim, estes RCT sugerem que o uso de PRF é uma alternativa válida ao ETC no tratamento de recessões gengivais localizadas, para além de que a membrana de L-PRF tem a vantagem de proporcionar um pós-operatório mais confortável.

Contrariamente ao suprarreferido, Jankovic et al., 2012, concluíram que a combinação da técnica RAC e L-PRF apresentam resultados satisfatórios de percentagem de RR obtido (mais de 80% aos 6 meses após cirurgia). No entanto, o procedimento RAC+ ETC continua a alcançar melhores resultados (91,96%).

Em 2018, Uzun e colaboradores realizaram um estudo com o objetivo de analisar a eficácia da aplicação de T-PRF comparativamente à técnica de ouro ETC, e concluíram que apesar das limitações do estudo o T-PRF é seguro e eficaz no tratamento de defeitos de recessão gengival múltiplos RT1. Aos 12 meses de pós-operatório, o resultado médio de RR obtido no grupo T-PRF+RAC foi de 93,29% e no grupo ETC+RAC de 93,22%. O aumento médio de LGQ foi superior no grupo T-PRF+RAC (1,97mm), comparativamente ao grupo ETC+RAC (0,75 mm), no entanto o grupo ETC+RAC apresenta maior aumento de EG. Relativamente ao grau de cicatrização e desconforto obtido (avaliada até aos 14 dias após a cirurgia) não foram detetadas diferenças entre os dois grupos.

A eficácia clínica da adição de membranas L-PRF à técnica cirúrgica ETC+RAC, foi avaliada no estudo realizado por Keceli et al. (2015) e contou com a participação de 40 pacientes e 40 defeitos gengivais. Com este estudo os autores concluíram que apesar

da técnica ETC+RAC já apresentar resultados favoráveis, o valor percentual obtido de RR foi superior, L-PRF+ETC+RAC=89,6% vs. ETC+RAC=79,9%, tal como o valor médio percentual de RRC, L-PRF+ETC+RAC=55% vs. ETC+RAC=35%. Ao invés, os resultados de LGQ e EG mantiveram-se inalterados com a adição de membranas L-PRF.

Duas revisões bibliográficas recentes apresentaram resultados inconclusivos ao avaliar o efeito de membrana L-PRF sozinha em diversos tratamentos de recessões classe I e II de Miller (RAC+PRF; RAC + PRF vs. RAC + ETC; PRF vs. PME). Todavia, concluiu-se que o uso de PRF é um bom coadjuvante do ETC, pois aliado aos resultados clínicos favoráveis proporciona um maior conforto pós-operatório ao paciente, menor nível de dor e morbidade (Moraschini & Barboza, 2016; Miron et al., 2017).

A análise dos vários estudos não é conclusiva, verificamos apenas que embora a utilização de L-PRF possa trazer algumas vantagens no tratamento de recessões gengivais, os resultados variam bastante e a principal vantagem verificada é a facilidade da preparação do material e a boa aceitação pelo paciente. Como suprerreferido, é importante levar em consideração que a variabilidade dos resultados pode dever-se à diversidade de PRFs e ao não seguimento dos seus protocolos de preparação, que devem ser realizados cuidadosamente. O seu sucesso depende diretamente da velocidade de colheita do sangue e da transferência para a centrífuga, pois apenas quando estas etapas são realizadas adequadamente o PRF deve ser usado, caso contrário a fibrina polimeriza de forma difusa não sendo possível a obtenção do material de consistência firme (Dohan et al., 2006).

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Intervenção	Protocolo	Resultados	Conclusões
T-PRF	Uzun et al., 2018	RCT (Avaliação aos 6 e 12 meses)	34	Grupo teste: T-PRF+ RAC n1=63 Grupo controle: ETC+RAC n2=51	2700 rpm 12 minutos	O RR médio obtido aos 12 meses de pós-operatório no grupo teste foi de 93,29% e no grupo controle de 93,22%; O LGQ foi 1,97mm no grupo T-PRF e 0,75 mm no grupo ETC; Mas o grupo ETC apresentou maior quantidade de espessura gengival (EG). Relativamente à cicatrização e desconforto (avaliada até aos 14 dias após a cirurgia) não foram detetadas diferenças entre o grupo teste e controle.	Apesar das limitações do estudo, o autor concluiu que o T-PRF é seguro e eficaz, tal como o ETC.
L-PRF	Öncü, 2017	RCT (Avaliação aos 6 meses)	20	Grupo teste: L-PRF + RAC n1=30 Grupo controle: ETC+RAC n2=30	2700 rpm 12 minutos	O RR obtido foi 84% no grupo de controle e 77,12% no grupo de teste. O RAC obtido nos grupos controle e teste foi 60% e 50%, respetivamente. Aos 6 meses de pós-operatório, LGQ foi maior no grupo controle e GT foi maior no grupo de teste. O uso de membrana PRF diminuiu o desconforto pós-operatório.	O autor sugere que o uso de PRF é uma alternativa válida ao ETC, e tem ainda a vantagem de proporcionar um pós-operatório mais confortável.
L-PRF	Eren et al., 2016	RCT (Avaliação aos 6 meses)	22	Grupo teste: L-PRF+RAC, n1=22; Grupo controle: ETC+RAC, n2=22	3000 rpm 10 minutos	Os níveis de IL-1 β foram significativamente mais elevados no grupo controle nos primeiros 10 dias. Nos dias seguintes os níveis de TIMP-1 diminuíram significativamente no grupo controle e aumentaram no grupo L-PRF. Os níveis de IL-1 β e MMP-8 foram significativamente menores no grupo teste. Não foram encontradas diferenças significativas em todos os parâmetros clínicos, quer na redução de PS, ganho de inserção clínica e LGQ em 1, 3 e 6 meses entre os grupos de estudo. Aos 6 meses, a % média RR no grupo PRF+RAC foi de 72,7% e no grupo RAC+ETC e de RRC de 77,3.	Os autores concluíram que o L-PRF pode ser uma alternativa ao ETC.
L-PRF	Agarwal et al., 2016	RCT (Avaliação aos 3 e 6 meses)	23	Grupo teste1: L-PRF+RAC, n1=15; Grupo teste 2: MA+RAC, n2=15 Grupo controle: RAC, n3=15	3000 rpm 10 minutos	Todos os grupos apresentaram valores médios de RR favoráveis: n1= 1,47 \pm 0,92 mm (56%), n2= 0,67 \pm 1,23 mm (36%) e n3=0,60 \pm 1,06 mm (33%); também se obteve valores médios de RC favoráveis: n1=33,3%; n2=26,6%; n3=13,3%. A aceitação dos pacientes relativamente à estética e hipersensibilidade foi melhor no grupo 1, enquanto o conforto foi maior no grupo 2. O aumento de EG foi maior no grupo 1.	O L-PRF é permite obter uma melhor taxa de RR e aumento da EG, mas a cicatrização é mais favorável com a aplicação de MA.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Intervenção	Protocolo	Resultados	Conclusões
L-PRF	Keceli et al., 2015	RCT (Avaliação aos 6 meses)	40	Grupo teste: L-PRF + ETC+RAC n1=20 Grupo controle: ETC+RAC n2=20	30000 rpm 10 minutos	Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, mas ambos apresentaram resultados favoráveis. A quantidade de RR (n1=89,6%; n2=79,9%), CAL e RAC (n1=55%; n2=35%) obtida no grupo teste foi superior. A LGQ e EG não apresentaram diferenças entre os grupos;	A combinação de membranas L-PRF com o ETC teve benefícios clínicos.
L-PRF	Gupta et al., 2015	RCT (Avaliação aos 3 e 6 meses)	26	Grupo teste: L-PRF+RAC, n1=15 Grupo controle: RAC, n2=15	2700 rpm 12 minutos	O RR obtido em n1 foi $91,00 \pm 19,98\%$ e em n2 foi $86,60 \pm 23,83\%$; A diferença entre os grupos, em todos os parâmetros aos 3 meses e 6 meses, não foi significativa. O RRC foi obtido em 80% do grupo teste e 73,3% do grupo controle.	O L-PRF não forneceu benefícios regenerativos ao procedimento RAC
L-PRF	Thamaraiselvan et al., 2015	RCT (Avaliação aos 6 meses)	20	Grupo teste: L-PRF+RAC, n1=10 Grupo controle: RAC, n2=10	3000 rpm 10 minutos	O RR foi de $65,00 \pm 44,47\%$ no grupo controle e $74,16 \pm 28,98\%$ no grupo teste. As diferenças de CAL, PS e GTQ entre os grupos não foram estatisticamente significativas. Por outro lado, houve um aumento significativo da espessura de gengiva no grupo teste.	A aplicação de L-PRF não teve vantagens nos resultados clínicos avaliados, exceto no aumento em espessura gengival.
L-PRF	Rajaram et al., 2015	RCT (Avaliação às 12 e 24 semanas)	40	Grupo teste: L-PRF + RRL n1= 20 Grupo controle: RRL n2= 20	2700 rpm 12 minutos	Não foram observadas diferenças significativas entre os parâmetros clínicos às 12 e 24 semanas entre os grupos. O RR médio obtido foi de $80\% \pm 29,1\%$ no grupo controle e $78,8\% \pm 37,6\%$ no grupo teste.	A aplicação de L-PRF não trouxe benefícios ao procedimento RRL.
L-PRF	Padma et al., 2013	RCT (Avaliação aos 1, 3 e 6 meses)	15	Grupo teste: L-PRF+RAC, n1=15 Grupo controle: RAC, n2=15	3000 rpm 10 minutos	O RR médio no grupo teste após 1, 3 e 6 meses foi de 34,58%, 70,73% e 100%, respectivamente. E no grupo controle o RR obtido nos 1,3 e 6 meses foi 31,15%, 61,46% e 68,44%, respectivamente. Este estudo também mostrou um aumento estatisticamente significativo de LGQ no grupo de teste - $2,94 \pm 0,77$ para $5,38 \pm 1,67$ em 6 meses.	A adição de membrana L-PRF não favorece o recobrimento radicular, mas tem benefícios de ganho de NIC e LGQ.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Intervenção	Protocolo	Resultados	Conclusões
L-PRF	Tunali et al., 2015	RCT (Avaliação aos 6 e 12 meses)	44	Grupo de estudo: L-PRF+RAC, n1=22; Grupo teste: ETC+RAC, n2=22	2700 rpm 12 minutos	O RR obtido aos 12 meses, no grupo teste foi 76,63% e no grupo controle foi 77,36%. Quanto aos resultados de NIC houve aumento em ambos os grupos, mas a diferença foi mais notória no grupo controle (1,18 mm para 3,03mm), do que no grupo teste (1,18 para 2,86) aos 12 meses; Resultados igualmente semelhantes entre grupos nos parâmetros LGQ, PS e EG.	O L-PRF pode ser uma alternativa ao ETC no tratamento de recessões múltiplas superiores a 3 mm.
L-PRF	Jankovic et al., 2012	RCT (Avaliação aos 6 meses)	15	Grupo de estudo: L-PRF+RAC, n1=15; Grupo teste: ETC+RAC, n2=15	3000 rpm (aproximadamente 400 g) 10 minutos	No grupo PRF a recessão diminuiu de $3,51 \pm 0,70$ mm para $0,68 \pm 0,45$ mm, o que corresponde a um RR de 88,68%. No grupo controle a recessão diminuiu de $3,45 \pm 0,84$ mm para $0,38 \pm 0,48$ mm, correspondendo a uma RR de 91,96%. RRC foi alcançado em 75,85% dos casos no grupo PRF e 79,56% dos casos do grupo ETC. LGQ no grupo PRF aumentou de $1,32 \pm 0,66$ mm para $2,20 \pm 0,54$ mm e no grupo controle aumentou de $1,41 \pm 0,58$ mm para $2,85 \pm 0,45$ mm.	Apesar dos bons resultados do L-PRF, o ETC continua a obter resultados clínicos mais previsíveis e promissores.

Tabela 4 – Concentrados plaquetários em tratamento recessões gengivais RT1 (segundo os métodos PRF+RAC vs RAC; PRF+RRL vs. RRL; RAC + L-PRF vs. RAC+ETC).

Nota: Os resultados numéricos apresentados estão representados pela média de valores obtidos

6.2. Aplicação de concentrados plaquetários após remoção de Enxerto do palato

A grande desvantagem de realizar procedimentos cirúrgicos com aplicação de enxertos autógenos gengivais é a necessidade de realizar mais uma cirurgia oral para recolha do mesmo, geralmente no palato, o que pode originar bastante desconforto, dor, morbidade da ferida e, conseqüentemente uma recuperação lenta. No sentido de proporcionar um pós-operatório mais agradável aos pacientes, surgiram vários estudos, na última década, com o objetivo de avaliar o efeito clínico da aplicação de concentrados plaquetários nas feridas cirúrgicas da zona dadora,, após recolha de ETC ou EGL (Sousa et al., 2020).

Assim, para avaliar o efeito dos CPs foram selecionados e analisados 6 RCTs publicados nos últimos 10 anos: Um avaliou o efeito do A-PRF no palato, após recolha de EGL (Sousa et al., 2020); Quatro estudos avaliaram o efeito do L-PRF no palato, após recolha de EGL (Femminella, et al., 2015; Ozcan et al., 2017; Bahammam, 2018; Samani et al., 2019) Outro estudo avaliou o efeito do L-PRF no palato, após recolha de ETC (Alpan & Cin, 2019). Os procedimentos, resultados e conclusões destes estudos são apresentados na tabela 6.

6.2.1. Concentrados Plaquetários na remoção de ETC

Os enxertos de tecido conjuntivo podem ser recolhidos em várias zonas da cavidade oral, desde zonas edêntulas do maxilar superior à tuberosidade maxilar ou ao palato anterior (entre o canino e 1º molar), sendo a última a zona dadora mais frequente (Lindhe, 2015).

O ETC é o procedimento com maior previsibilidade para recobrir raízes e se o procedimento cirúrgico seguir a técnica de incisão única geralmente proporciona menos desconforto ao paciente do que o EGL, pois a cicatrização ocorre por primeira intenção. No entanto o tecido palatino é muito espesso e fibroso, e a sua cicatrização, mesmo tendo os bordos de incisão em contacto, não é rápida e pode originar dor, edema, hemorragia e, por vezes necrose ou infeção do retalho (Alpan & Cin, 2020).

Em 2019 foi publicado o primeiro ensaio clínico randomizado com o objetivo de avaliar a eficácia clínica do L-PRF, na cicatrização de tecidos moles após recolha de ETC, com a técnica de incisão única (figura 8). O estudo contou com a participação de 40 pacientes e 40 zonas dadoras, que foram avaliados ao 1º, 7º, 14º e 28º dias após a cirurgia segundo os parâmetros: Dor (EVA), sangramento tardio, consumo de analgésicos, cor do tecido e índice de cicatrização precoce (EHI). Segundo os resultados obtidos, no grupo L-PRF foram relatados valores de dor significativamente mais baixos em todos os momentos de avaliação

e ao 3º e 7º dias, os valores do EHI foram mais favoráveis no grupo teste, tal como a ingestão de analgésicos também foi significativamente menor no grupo L-PRF. Apesar das limitações do estudo, os autores concluíram que a aplicação de membrana L-PRF após recolha de ETC proporcionou resultados promissores na cicatrização das feridas e desconforto pós-operatório (Alpan & Cin, 2020).

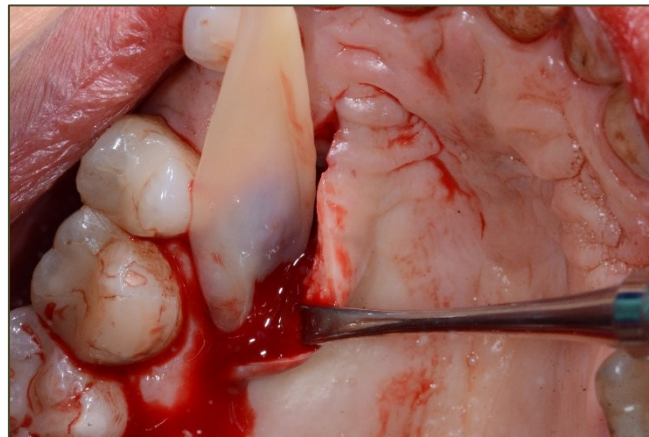


Figura 8 – Aplicação de membrana L-PRF no palato após recolha de ETC (figuras gentilmente cedidas pelo Prof. Doutor Ricardo Alves).

6.2.2. Concentrados Plaquetários na remoção de EGL

A espessura gengival e existência de tecido queratinizado é muito importante para a estabilidade a longo prazo do periodonto, pois desempenha um papel fundamental na prevenção da recessão gengival (Lindhe, 2015).

O EGL é uma das cirurgias plásticas periodontais mais comuns e mais previsíveis para aumentar ou reestabelecer a gengiva queratinizada ao redor dos dentes e implantes (Agarwal et al., 2017). É de fácil obtenção, contudo origina uma ferida palatina de grandes dimensões, que cicatriza por segunda intenção, por isso requer uma cicatrização mais longa associada a desconforto e dor (Bahammam, 2018).

Sousa et al., 2020, avaliaram a aplicação de uma membrana A-PRF na zona dadora do palato após recolha de EGL e concluíram que o A-PRF permite um pós-operatório mais simples aos pacientes. Neste estudo, os pacientes do grupo teste receberam 2 membranas de A-PRF na ferida do palato (figura 9), enquanto os pacientes do grupo controlo receberam uma esponja de colagénio hidrolisada. Os pacientes foram acompanhados em consultas de controlo aos 2, 7, 14, 30 e 90 dias. Os parâmetros avaliados foram a dor e desconforto (EVA), a extensão da ferida cirúrgica (em mm) e a taxa de epiteliação total, que ao 30º dia da cirurgia atingiu a maior diferença entre os grupos A-PRF (91,5%) e grupo controlo (59%), o que comprova a teoria de que o A-PRF acelera a cicatrização. Também a diferença de dor sentida é francamente melhor com as A-PRF, visto que ao 7º dia nenhum paciente do grupo teste indicou dor, por sua vez no grupo controlo tal situação só ocorreu ao 30º dia. É importante salientar que o estudo apresenta algumas limitações, como o fato de não analisar alguns parâmetros clínicos importantes para avaliar a cicatrização, qualidade de vida do paciente ou a relação da medicação tomada por dia com a dor sentida.

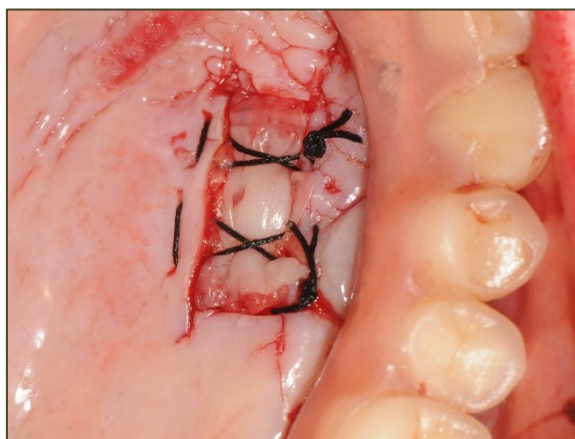


Figura 9 – Aplicação de membrana L-PRF no palato, após recolha de EGL (figura gentilmente cedida pelo Prof. Doutor Ricardo Alves).

Os restantes RCTs analisados na tabela 6 (Femminella et al., 2016; Ozcan et al., 2017; Bahammam, 2018) avaliaram a eficácia de membranas L-PRF na ferida da zona dadora, após recolha de EGL. Os parâmetros de avaliação em ambos os estudos foram a dor (escala EVA), taxa de epiteliação, grau de sensibilidade, hábitos alimentares e hemorragia tardia.

O estudo de Ozcan et al., 2017, contou com uma amostra de 125 pacientes, divididos em 3 grupos: Grupo L-PRF – L-PRF com adesivo de butil-cianoacrilato (BCA) (n = 42); grupo BCA, onde apenas se aplicou um adesivo BCA (n = 42); grupo controlo, em que apenas se realizou compressão e aplicação de gaze (n = 41). Os resultados deste estudo mostram que o uso do L-PRF tem efeitos positivos em qualquer um dos parâmetros avaliados (cicatrização e percepção de dor pelo paciente). Não se observou hemorragia no grupo L-PRF, por sua vez no 1º dia após cirurgia 84% dos pacientes do grupo BCA tiveram hemorragia e os pacientes do grupo controlo apresentaram hemorragia do 1º ao 7º dia. O valor máximo de dor no grupo L-PRF oscilou entre 2 a 0,02 (5º dia), enquanto que os grupos BCA e controlo obtiveram um máximo de 4,85 e 6,10, respetivamente (registo de dor no grupo controlo até ao 28º dia). Duas semanas após cirurgia, 85,7% do grupo L-PRF apresentou epitelização completa, enquanto os restantes grupos só atingiram esses valores na 4ª semana. Quanto à sensibilidade e hábitos alimentares, até à 3ª semana, detetou-se uma maior diferença entre o grupo L-PRF e os restantes.

O estudo de Bahammam, 2018, contou com uma amostra de 24 pacientes, 12 com aplicação de membrana L-PRF e outros 12 sem membrana. O autor concluiu que a cicatrização dos tecidos, aliado a níveis de dor e desconforto pós-operatório mais baixos é favorável com a aplicação de membrana L-PRF. Os indivíduos do grupo PRF relataram níveis de dor baixos (máx. 2,10), comparativamente ao grupo controlo (máx. 5,46). Quanto aos parâmetros da cicatrização (alteração de cor, contorno e textura), o grupo controlo atingiu piores valores durante os 2 meses de pós-operatório. Os pacientes do grupo L-PRF relatam valores mais baixos de desconforto durante os 3 primeiros dias. Apesar dos resultados favoráveis, o autor recomenda ainda a análise histológica para avaliar a natureza do tecido cicatricial.

Por fim o estudo de Femminella et al., 2016, contou com uma amostra de 40 pacientes, 20 do grupo teste, aplicação de membrana L-PRF e os restantes 20 do grupo controlo que apenas receberam uma esponja hemostática. Os pacientes foram monitorizados durante as 4 primeiras semanas após a cirurgia. O grupo teste apresentou uma epitelização mais rápido (1ª semana – grupo teste=35%; grupo controlo=10%), menos desconforto pós-operatório e menos necessidade de tomar medicação. Quanto à hemorragia e alteração de sensibilidade não foram registados casos nos 2 grupos.

Todos os estudos que pretenderam avaliar a eficácia do L-PRF no processo de cicatrização do tecido, da diminuição de morbidade e desconforto pós-operatório apresentaram resultados bastantes positivos. Em todos eles o protocolo de centrifugação usado para produzir o L-PRF foi diferente, tal como as recomendações pós-operatórias. O estudo de Ozcan et al., 2017, pode ser considerado o mais fiável, pois um dos critérios de inclusão no estudo foi o não uso de medicação ao longo do período pós-operatório. Por sua vez, os restantes estudos receitaram antibiótico e/ou analgésico aos pacientes incluídos no estudo. Mesmo assim os resultados da aplicação de L-PRF foram sempre satisfatórios.

Também Samani et al., 2019, avaliaram a eficácia do PRP na cicatrização de feridas do palato após recolha de EGL, através de um RCT *split-mouth* (tabela 6). De forma aleatória, um dos lados do palato recebeu PRP na ferida cirúrgica e o lado contrário recebeu uma esponja de colagénio. Relativamente à dor (escala EVA), as diferenças entre os dois grupos foram significativas até ao 10º dia após a cirurgia, sendo que o grupo teste apenas apresentou dor até ao 4º dia. Também o contorno, aspeto da ferida e inflamação presentes mostraram resultados díspares entre os dois grupos, sendo o grupo teste o que obteve os melhores resultados. Segundo os resultados obtidos da espessura do tecido, avaliada 2 meses após a cirurgia, não existiram diferenças entre os 2 grupos. O autor conclui então, que o PRP também acelera o processo de cicatrização e reduz a morbidade pós-operatória.

Miron et al., 2017, também avaliaram o efeito de membranas L-PRF na cicatrização de tecidos moles, através de uma revisão bibliográfica com 49 estudos *in vitro* (7), *in vivo* (11) e ensaios clínicos (31). Em resumo, 6 em 7 (85,7%) estudos *in vitro* e 11 em 11 (100%) *in vivo*, indicaram vantagens significativas da aplicação de L-PRF, tal como dos 31 ensaios clínicos, 27 (87%) apoiaram o uso de L-PRF na regeneração e cicatrização de tecidos moles da cavidade oral.

Em suma, podemos concluir que independentemente do protocolo de centrifugação e de preparação ou da técnica cirúrgica usada para recolher EGL, qualquer um dos concentrados plaquetários testados (PRP, L-PRF ou A-PRP) indicam resultados clínicos muito favoráveis: uma cicatrização mais rápida, diminuição da dor, do desconforto e de complicações pós-operatórias principalmente nos 14 dias seguintes à cirurgia.

Concentrado Plaquetário	Tipo de estudo	Autores	Intervenção	Técnica Cirúrgica	Protocolo	Medicação	Principais resultados	Conclusões
A-PRF	RCT (Avaliado ao 7º, 14º, 30º e 90º dia)	Sousa et al., 2020	Grupo de teste n1=11 Grupo de controle n2=14	Convencional, com bisturi e em média a espessura do enxerto é de 1,5 mm;	1500 rpm 8 minutos	Paracetamol (1g) 3x/dia (máx.)	O grupo A-PRF apresentou maior redução da ferida palatina aos 7, 14 e 30 dias de acompanhamento. Mas a maior diferença entre os grupos foi alcançada ao 30º dia (91,5% no grupo teste vs. 59% do grupo controle); Aos 14 dias, 64,3% do grupo teste e 9,1% do grupo controle apresentaram epiteliação completa. O grupo controle experimentou um maior nível de dor e desconforto até o 14º dia, alcançando o pico de dor ao 2º dia;	As membranas A-PRF aceleraram o processo de cicatrização, estimularam a redução da ferida e permitiram um pós-operatório menos doloroso.
PRP	RCT (Avaliado ao 2º, 4º, 7º, 10º, 14º e 60º dia)	Samani et al., 2019	Grupo de teste n1=10 Grupo de controle n2=10	Com recurso a micrótomo, para realizar um tamanho padrão de enxertos (1,5x9x15 mm)	4000 rpm 8 minutos	Amoxicilina 500 mg – 1 semana); Analgésico (quando necessário)	Foram observadas diferenças significativas entre os grupos em todos os parâmetros, exceto na EG N2 apresenta dor nos primeiros 10 dias; enquanto n1 apenas relata dor até ao 4º dia. Ao dia 2 a média do nível de dor (escala EVA) de n1 ≈3,20 e de n2≈7. Ao 7ºdia 90% de n1 apresentou encerramento de ferida sem sinais de inflamação, por sua vez só na semana seguinte n2 atingiu estes valores;	O PRP acelerou a cicatrização da ferida e reduziu o desconforto pós-operatório.
L-PRF	RCT (Avaliado ao 1º-7º, 14º, 21º, 28º dia)	Alpan & Cin, 2019	Grupo teste n1= 20 Grupo controle n2= 20	Técnica convencional, mas todos os enxertos têm medidas padrão: 10x5x2 mm.	2800 rpm 12 minutos	Paracetamol (500 mg), em caso de dor	Os pacientes do grupo teste relataram níveis de dor significativamente mais baixos - Dor (escala EVA): 1º dia: n1-52,5; n2- 71,58; 10º dia: n1 - 3,0; n2- 14,21; Ao 3º e 7º dias após a cirurgia, os valores de EHI foram menores no grupo L-PRF; Ao longo do estudo o tecido aparentou sempre uma cor mais saudável no grupo teste; A ingestão de analgésicos foi significativamente menor no grupo PRF no primeiro e terceiro dia após cirurgia: 1º dia: n1 – 1,15; n2 – 1,84; 3º dia: n1 – 0,30; n2- 0,89; 7º dia: n1 – 0,05; n2- 0,16;	A aplicação de L-PRF no palato após recolha de ETC, apresentou melhor cicatrização e redução do desconforto pós-operatório.

Concentrado Plaquetário	Tipo de estudo	Autores	Intervenção	Técnica Cirúrgica	Protocolo	Medicação	Principais resultados	Conclusões
L-PRF	RCT (Avaliado ao 1º-7º, 14º, 21º, 28º dia)	Bahammam 2018	Grupo teste n1=12 Grupo controlo n2=12	Com recurso a instrumentos ultrassónicos (segundo técnica de Sullivan): Espessura: 1-1,5 mm; Dimensão: 12x7 mm	3000 rpm 10 minutos	Paracetamol 1g (em caso de dor)	A diferença de dor sentida entre os grupos foi sendo cada vez maior até ao 3º dia; Após 4 h da cirurgia: n1 – 2,10; n2 – 5,46; Após 3 dias: n1 – 0,53; n2 – 3,94; 4 dias: n1 – 0; n2 – 0, 86; A maior diferença de dor entre os grupos teste e controlo foi registada ao 21º dia - n1 – 2,14; n2 – 2,86; Relativamente à cicatrização, na 2ª semana não há diferenças significativas, ao invés na 3ª e 4ª semana o grupo teste apresenta melhor cicatrização da ferida;	As membranas L-PRF reduziram significativamente a dor e o desconforto pós-operatório e facilitaram a cicatrização.
L-PRF	RCT (Avaliado ao 1º-7º, 14º, 21º e 28º dia)	Ozcan et al., 2017	Grupo de teste: - PRF com adesivo BCA n1= 42 - Adesivo BCA n2= 42 - Compressão com gaze húmida (CG) n3= 41 *Os cianoacrilatos (BCA) são um grupo de adesivos simples e baratos, usados como estabilizadores teciduais do periodonto.	Desepitelização e incisões com recurso a laser de diodo de alumínio. Medidas do enxerto delineadas.	2700 rpm 12 minutos	Não foi prescrita medicação e se o paciente se automedicou, saiu do estudo;	Foram observadas diferenças estatisticamente significativas para todos os parâmetros em favor do grupo PRF. Relativamente ao grau de epitelização total, ao 14º dia, n1 apresentou 85,7%, n2 - 26,2% e n3 – 12, 2%; E ao 21º dia: n1 – 100%; n2 – 92%; n3 – 46,3%. Quanto à dor (escala EVA) as diferenças entre n1 e n2 manifestaram-se até ao 6º dia. Ao 1º dia: n1 – 2; n2 – 4,55; n3 – 6,10; A partir do 21º não foi detetado dor em algum grupo. Hemorragia ocorreu em 80% de n2 no 1º dia de pós-operatório; Hábitos alimentares normais (%) ao 7º dia: n1 – 64,3 %, n2 – 35,7 %, n3 – 17,1%.	O L-PRF pode fornecer benefícios significativos para um pós-operatório mais confortável e uma cicatrização mais rápida
L-PRF	RCT (Avaliado ao 1º-7º, 14º, 21º, 28º dia)	Femminella, et al., 2015	Grupo teste n1= 20 Grupo controlo n2= 20	Técnico convencional com bisturi. Comprimento: 15 mm; Espessura: 2 mm;	3000 rpm 10 minutos	Amoxicilina+ Ácido Clavulânico 1g (12/12 h) – 6 dias; Cefotrofeno (em caso de dor).	Ao 14º dia, o grupo teste apresentou um grau de reepitelização completa mais elevado, cerca de 35%, ao invés o grupo controlo, com cerca de 10%; Ao 21º dia: n1=100%; n2= 25%; Nunca foram detetadas diferenças de sensibilidade pós-operatória entre os grupos.	O L-PRF acelerou significativamente a cicatrização e reduziu a morbidade de feridas palatinas.

Tabela 5 – Concentrados plaquetários no palato, após recolha EGL e ETC.

Nota: Os resultados numéricos apresentados estão representados pela mediana dos valores obtidos.

6.3. Concentrados Plaquetários em Regeneração Periodontal

A periodontite é caracterizada pela presença de bolsas periodontais, associadas a perda de inserção clínica e ao aumento da profundidade de sondagem, o que origina reabsorções ósseas e consequente modificação da arquitetura do osso alveolar. A regeneração periodontal pressupõe a restauração da arquitetura e função das estruturas perdidas ou danificadas do suporte do dente (Pradeep et al., 2012; Lindhe, 2015).

A obtenção de regeneração periodontal completa é difícil de atingir, principalmente se a doença periodontal já estiver muito avançada. Assim, para determinar o sucesso clínico do tratamento periodontal regenerativo é necessário analisar alguns parâmetros: Redução da profundidade de sondagem, ganho do nível inserção clínica, diminuição da profundidade do defeito ósseo e o preenchimento ósseo, observado radiologicamente (Shah et al., 2015). No entanto, a avaliação histológica continua a ser o único método fiável para determinar a natureza do preenchimento do defeito (Cortellini, 2003).

Ao longo dos tempos têm sido utilizados diversas técnicas e biomateriais para o tratamento de defeitos ósseos verticais com resultados passíveis de obter um nova inserção e preenchimento ósseo, desde técnicas de regeneração tecidual guiada (RTG) através da aplicação de membranas de barreira com ou sem enxertos ósseos, a enxertos de substituição óssea (osso ou substitutos ósseos), ou materiais regenerativos biologicamente ativos, como é o caso de proteínas derivadas da matriz do esmalte (PME) ou a família dos Concentrados de Plaquetas (Roselló-Camps et al., 2015).

Alguns autores têm procurado explorar as propriedades dos concentrados autólogos de plaquetas, utilizando-os no tratamento de defeitos periodontais. Nestes casos os concentrados plaquetários são aplicados no defeito, depois de removido todo o tecido de granulação, sob a forma de membranas ou combinado com enxertos ósseos, que posteriormente são cobertos com membranas CP (Agrawal et al. 2017).

Estudos *in vitro* revelam que o L-PRF atua localmente no defeito ao potenciar recrutamento e migração de células estaminais e progenitoras diretamente para o local do defeito, com posterior diferenciação numa grande variedade de células endoteliais, fibroblastos, condrócitos e osteoblastos (Miron et al., 2016). A amplificação destes mecanismos biológicos serve de base à angiogénese e ao seu potencial efeito de produzir a regeneração tanto de tecidos moles como duros. Este processo é regulado pelas proteínas

plasmáticas presentes e pela libertação de fatores de crescimento autólogos que ficam aprisionados nas malhas de fibrina, que vai sendo perpetuado por um período de 7 a 14 dias, à medida que a matriz de fibrina vai sendo remodelada e reabsorvida (Verma et al., 2017).

6.3.1. Aplicação de concentrados plaquetários em defeitos infra-ósseos

A previsão do sucesso da cirurgia regenerativa depende do tipo de defeito e da sua morfologia, pois existe uma relação direta da espessura de tecidos moles com a área de tecido ósseo vascularizado adjacente. Os defeitos profundos de três paredes apresentam maior potencial de regeneração, uma vez que estão completamente rodeados por osso, o que permite o repovoamento de células ósseas na superfície radicular dos dentes. Em contrapartida, quanto mais largo o defeito, menor a previsibilidade do ganho de inserção e do preenchimento ósseo (Lindhe, 2015).

Com o objetivo de avaliar o efeito dos concentrados plaquetários na regeneração de DIO foram selecionados e analisados 15 RCTs publicados na última década.

Em todos os estudos, os pacientes com patologias sistêmicas e fumadores foram excluídos, o que permite um maior controlo e menor enviesamento de resultados (tabela 7).

Combinação de membrana L-PRF com procedimentos microcirúrgicos de retalho:

Thorat, et al., 2017, realizaram um estudo *Split-mouth* com o objetivo de avaliar a eficácia da aplicação de membranas L-PRF em cirurgias regenerativas DIO de 3 paredes. Para tal, contaram com uma amostra de 15 pacientes e 30 locais de cirurgia, aleatoriamente divididos em 2 grupos: Grupo teste - Técnica de retalho de Kirkland modificado (RM) com posterior aplicação de membrana L-PRF; grupo controlo – Procedimento microcirúrgico RM isoladamente. Os resultados obtidos mostram uma redução de PS e ganho de NIC em ambos os grupos de estudo, apesar dos resultados serem muito mais favoráveis no grupo L-PRF+RM (diferença de PS=4,00mm; NIC=4,00mm) comparativamente ao grupo RM (diferença de PS=1,5mm; NIC=0,33mm). Tal diferença também foi denotada no aumento numérico e percentual de preenchimento ósseo obtido, sendo que no grupo teste houve um ganho ósseo médio de 3,09 mm e 80% dos DIO alcançaram regeneração óssea $\geq 50\%$. Ao invés, no grupo controlo o ganho ósseo médio permaneceu em 1,67 mm.

Também Sharma & Pradeep, em 2011b, já tinham obtido resultados semelhantes ao estudar o efeito do L-PRF em microcirurgias de retalho aberto (DRA) em 58 pacientes e 58

DIO aleatoriamente agrupados nos grupos L-PRF+DRA ou DRA. A redução de PS, ganho de NIC e percentagem de preenchimento ósseo alcançados foram de 4.5mm e 48.2%, 3.2mm e 18%, nos grupos L-PRF+DRA e DRA, respetivamente.

Através dos resultados apresentados nos dois estudos, os autores de ambos concluíram que a aplicação de L-PRF no tratamento de DIO em pacientes com periodontite demonstrou melhores resultados clínicos e um maior preenchimento do defeito comparativamente a um retalho de acesso sem utilização de biomateriais (Sharma & Pradeep 2011b, Thorat et al., 2017), o que significa que o L-PRF apresenta elevadas potencialidades regenerativas.

Mais recentemente, em 2018, Arabaci & Albayrak realizaram um estudo com a finalidade de avaliar a eficácia do T-PRF, através da comparação dos resultados do procedimento microcirúrgico de retalho aberto. Neste estudo *Split-mouth* participaram 29 pacientes com 2 DIO, em que um foi tratado com o procedimento DRA e uma membrana de T-PRF e o outro apenas com DRA. Nove meses após a cirurgia, os resultados obtidos de redução de PS (T-PRF+DRA =4,13mm; DRA =3,01mm) e ganho de NIC (T-PRF+DRA = 3,65mm; DRA =2,3mm) foram superiores no grupo T-PRF+DRA. O que demonstra que a membrana de T-PRF apresenta potencialidades regenerativas para tratar defeitos infra-ósseos. Este estudo também analisou a concentração de FC presente nos dois grupos ao longo das 6 primeiras semanas de pós-operatório, ao que se observou que ambos os grupos apresentaram picos dos níveis de FGF, PDGF e TGF- β na 2ª semana, que a concentração desses FC foi muito superior no grupo T-PRF+DRA ao longo das 6 semanas, o que era de esperar pois o PRF tem capacidade para aumentar a libertação de FCs, o que consequentemente permite obter melhores resultados regenerativos.

Um ano antes, também Chatterjee e colaboradores já tinham realizado um estudo com o objetivo de comparar a eficácia clínica de membranas L-PRF com membranas T-PRF em DIO tratados com a técnica microcirúrgica DRA. Para isso, o estudo contou com a participação de 38 pacientes e 75 defeitos infra-ósseos, aleatoriamente separados em 3 grupos: T-PRF+DRA; L-PRF+DRA e DRA. Ao analisar os resultados médios dos parâmetros redução de PS (T-PRF +DRA =6,25mm; L-PRF+DRA=5,46mm; DRA=3, 6 mm), ganho de NIC e preenchimento do defeito obtidos, percebe-se que apesar dos grupos T-PRF e L-PRF mostrarem valores semelhantes, os do grupo T-PRF+DRA são sempre superiores. Após 9 meses de avaliação, a percentagem média de ganho ósseo obtida no grupo

T-PRF +DRA foi de 76,45%, no grupo L-PRF+DRA foi de 73,09%, enquanto no grupo DRA foi de apenas 54,22% e assim, os autores concluíram que os concentrados plaquetários apresentam benefícios como coadjuvantes no tratamento regenerativos de DIO. No entanto, a comparação entre os dois tipos de PRF foi inconclusiva, devido à diferença de resultados entre os dois grupos de estudo ser insignificativa.

Apesar de terem protocolos mais exigentes, mais demorados e menos práticos, os concentrados de plaquetas de 1ª geração também podem ser usados em cirurgias orais. Nesse sentido, e para comparar os efeitos clínicos da aplicação de membranas L-PRF com as membranas PRP, Pradeep e seus colaboradores, em 2012, realizaram um estudo em que analisaram 90 defeitos infra-ósseos de três paredes sujeitos ao procedimento microcirúrgico de DRA, aleatoriamente agrupados em um dos 3 métodos de tratamento: L-PRF+DRA; PRP+DRA; DRA. Todos os defeitos avaliados mostraram redução média da PS (L-PRF+DRA=3.7 vs. PRP+DRA=3.7 vs. DRA=2.7mm), ganho médio de NIC (L-PRF+DRA=3.17 vs. PRP+DRA= 2.9 vs. DRA=2.9 mm), preenchimento ósseo percentual (L-PRF+DRA=55,41% vs. L-PRP+DRA=56,85% vs. DRA=15%) e diminuição do defeito ósseo satisfatórios. Apesar de o grupo PRF apresentarem melhorias mais significativas, também o grupo PRP demonstrou efeitos interessantes, o que sustenta a teoria de que os fatores de crescimento aceleram a cicatrização dos tecidos moles e duros.

Combinação de membranas L-PRF com enxerto ósseo:

Em 2012, Lekovic et al. realizaram um estudo com o objetivo de analisar o efeito do L-PRF combinado com mineral ósseo de bovino desproteínizado (MOBDP), um xenoenxerto utilizado com sucesso na regeneração de DIO. O estudo *split-mouth* contou com a participação de 17 pacientes, em que um deles foi tratado com sticky bone (PRF+ MOBDP) e posteriormente coberto por uma membrana de L-PRF. E o outro defeito foi tratado apenas com membranas de L-PRF picadas e com uma membrana de L-PRF por cima, para tapar e proteger o biomaterial. Os resultados do estudo indicam que o L-PRF associado a BPBM tem capacidade para melhorar os efeitos clínicos obtidos e necessários para o tratamento de DIO, como a redução da profundidade da bolsa periodontal, aumento do nível de inserção clínica e o preenchimento do defeito ósseo. O grupo L-PRF+BPBM apresentou um ganho de inserção clínica significativamente maior ($3,82 \pm 0,78$ mm em vestibular e $3,71 \pm 0,75$ mm em lingual) do que o grupo L-PRF ($2,24 \pm 0,73$ mm em vestibular e $2,12 \pm 0,68$ mm em

lingual), tal como o valor obtido de preenchimento do defeito também foi maior no grupo L-PRF+BPBM ($4,06 \pm 0,87$ mm em vestibular e $3,94 \pm 0,73$ mm em lingual) do que no grupo L-PRF ($2,21 \pm 0,68$ mm em vestibular e $2,06 \pm 0,64$ mm em lingual).

Também Shah et al., 2015 e Agarwal et al., 2016 avaliaram o efeito do L-PRF combinado com MOBDP. Agarwal et al., 2016, e Shah et al., 2015, obtiveram resultados de profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica, recessão gengival e preenchimento ósseo muito satisfatórios em ambos os grupos de estudo. Dado que nos dois estudos os grupos apresentaram valores iniciais de dimensão do defeito ósseo, índice de placa e gengival semelhantes, as diferenças de resultados observadas só podem ser explicadas pelas qualidades do PRF. Posto isto, os autores dos 2 estudos concluíram que o PRF quando combinado com este enxerto ósseo apresenta propriedades regenerativas bastante consideráveis, e por isso poderá ser um substituto mais simples, prático e barato ao enxerto ósseo.

Combinação de L-PRF e PRP com substitutos ósseos:

Outros estudos avaliaram ainda, se os bons resultados do L-PRF combinado com outros enxertos ósseos se mantinha com um aglomerado de cristais de hidroxiapatite (HA). Pradeep et al., 2017, analisaram 90 defeitos infra-ósseos de três paredes aleatoriamente divididos por 3 grupos de estudo - PRF + HA+ DRA; DRA+ PRF; DAR - e comparados entre si. Segundo os resultados, a redução média da PS é comum a todos os grupos (4.27 ± 0.98 mm vs. 3.90 ± 1.09 mm vs. 2.97 ± 0.93 mm), tal como o ganho médio do nível de inserção (3.67 ± 1.03 mm vs. 3.03 ± 1.16 mm vs. 2.67 ± 1.09 mm), apesar dos grupos PRF + HA+ DRA e DRA+ PRF apresentarem resultados mais favoráveis. Tal diferença também se verificou no valor médio de preenchimento do defeito ósseo nos 3 grupos (63.39% vs. 56.46% vs. 15.96%) e permitiu aos autores concluírem que o L-PRF tem capacidade de acelerar a cicatrização e melhorar a regeneração de tecidos periodontais moles e duros, e que a combinação do L-PRF com HA aumenta os efeitos clínicos observados com PRF no tratamento de DIO de três paredes. Para sustentar a conclusão anterior também Elgendy & Abo Shady (2015) realizaram um estudo com o intuito de analisar os resultados clínicos e radiográficos do enxerto de hidroxiapatite nanocristalina (NCHA) com ou sem adição de L-PRF no tratamento de defeitos periodontais infra-ósseos. Este estudo concluiu que nos dois grupos de estudo obteve-se redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica

e aumento da densidade óssea. No entanto, no grupo tratado com NcHA os resultados foram melhores, o que sustenta a ideia de que a combinação de L-PRF com ncHA demonstra vantagens regenerativas bastante agradáveis.

Para avaliar as possíveis vantagens do PRP combinado com substitutos ósseos na regeneração de DIO, Ozdemir e colaboradores, 2012, realizaram um estudo, em que contaram com a participação de 14 pacientes e 28 DIO aleatoriamente agrupados em PRP+ Fosfato Beta-tricálcio (β -TCP) ou β -TCP. Aos 6 meses, foram detetadas reduções estatisticamente significativas do índice gengival, profundidade da bolsa periodontal e profundidade do defeito infra-ósseo radiograficamente em ambos os grupos, e os valores medianos do nível de inserção clínica diminuíram de 7.0mm para 6.0 mm no grupo β -TCP e 7.5mm a 5.0 mm no grupo PRP+ β -TCP. Os autores concluíram assim que, não foram observados benefícios adicionais estatisticamente significativas com o uso de PRP, mas que tanto a combinação PRP+ β -TCP como β -TCP foram considerados eficazes no tratamento de defeitos infra-ósseos de três paredes. Também o estudo de Bharadwaj et al., 2011, teve a finalidade de comparar a eficácia clínica de duas técnicas regenerativas periodontais: PRP + enxerto ósseo (HA + β TCP) versus enxerto ósseo (HA + β TCP) + solução salina. Os defeitos do grupo PRP+ HA + β TCP mostraram uma maior redução da profundidade de sondagem e da profundidade do defeito clinicamente e radiologicamente, indicando maior radiopacidade óssea na zona do defeito. O que significa que existiu uma melhor remodelação do enxerto nos defeitos tratados com PRP, mas que o enxerto ósseo (HA + β TCP) isoladamente parece ser um material igualmente benéfico no tratamento de DIO.

L-PRF vs PME:

A aplicação de PME (Emdogain®) é um procedimento considerado de sucesso no tratamento de DIO, obtendo vantagens significativas de ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo. No sentido de comparar um tratamento regenerador de sucesso com o L-PRF, Gupta e seus colaboradores realizaram um estudo, em 2014, que contou com a participação de 30 pacientes e 44 DIO aleatoriamente distribuídos em 2 grupos de tratamento, L-PRF ou PME. Os resultados obtidos em ambos os grupos apresentaram uma redução elevada da profundidade de sondagem (L-PRF=1.8 \pm 0.77; PME=1.8 \pm 0.56), bem como ganho no nível de inserção clínica (L-PRF=1.87 \pm 0.92; PME=2.00 \pm 0.53) e uma redução estatisticamente significativa da profundidade e largura do defeito. No entanto, no grupo

tratado com PME observou-se através da análise de CBCTs uma percentagem superior de preenchimento ósseo (L-PRF=32,41%; grupo PME=43,07%). O estudo não relatou complicações pós-operatórias, indicando que o PME e o PRF são produtos biocompatíveis, apesar do PME apresentar maior previsibilidade de regeneração do DIO. Embora o PRF também tenha mostrado resultados promissores, ensaios clínicos multicêntricos de longo prazo, juntamente com grandes tamanhos de amostra, são necessários para autenticá-lo como um material de escolha para regeneração periodontal.

Aplicação de L-PRF em RTG

Uma das questões que se impõe sobre a utilização de L-PRF em RTG é se deve ser utilizado sozinho ou em combinação com uma membrana de colagénio (MC), e se combinado, se o PRF deve ser usado em cima ou em baixo da membrana de colagénio. Após vários anos de investigação, chegou-se à conclusão de que as membranas de PRF devem ser utilizadas combinadas com membrana de barreira. Panda e colaboradores, em 2016, avaliaram o efeito adicional da utilização de membranas de L-PRF na técnica RTG através da comparação com as tradicionais membranas de colagénio. Neste estudo de boca dividida envolvendo 16 pacientes, após 9 meses, os autores observaram uma maior redução da profundidade de sondagem (L-PRF=3,88mm; MC=3,19mm), ganho de inserção clínica e aumento da radiopacidade óssea (L-PRF=58,19%; MC=24,86%) do defeito comparativamente às localizações onde foi utilizada apenas uma membrana de colagénio. Isto indica que a membrana L-PRF é eficaz como membrana de barreira no tratamento de DIO e eleva os benefícios regenerativos da RTG, pois o perióstio, que adicionalmente contém células progenitoras, fica em contacto com as células e fatores de crescimento aprisionadas na matriz de L-PRF, o que estimula a regeneração óssea.

Apesar de todos os benefícios do L-PRF e especificamente das membranas L-PRF, é importante ter em conta que a rede de fibrina do PRF se desintegra após 7 a 10 dias e na regeneração dos defeitos periodontais é necessário que a membrana mantenha a sua integridade durante 4 a 6 semanas. Logo o tempo para que a membrana de PRF se mantém íntegra pode revelar-se insuficiente. Um estudo realizado por Sam et al., 2015, observou que as membranas de L-PRF sofrem degradação de 36% do seu peso após uma semana, enquanto as membranas de colagénio apresentam uma diminuição de apenas 8% no mesmo período.

Para sustentar as conclusões suprarreferidas, resolveu-se examinar a revisão sistemática de Castro et al., 2017, que selecionou 13 estudos com o objetivo de avaliar os benefícios do L-PRF no tratamento de DIO. Os resultados relatam que o PRF aplicado sozinho ou combinado com outros biomateriais ou procedimentos apresentam benefícios regenerativos, redução de PS, ganho de NIC e preenchimento ósseo.

Por outro lado, Zhou et al., 2018, avaliou através de uma revisão sistemática com 9 estudos recentes, os efeitos coadjuvantes de materiais bioativos, PRP, PRF, PME e MA nos resultados do tratamento de enxerto ósseo para defeitos infra-ósseos periodontais, e concluiu que o PRF / PRP podem ser considerados como os coadjuvante com melhor capacidade para facilitar a regeneração periodontal de defeitos infra-ósseos.

Em resumo, o uso do CPs em regeneração de defeitos infra-ósseos apresenta benefícios clínicos combinados com um biomaterial, enxertos ósseos, substitutos ósseos ou membranas de colagénio. Se aplicada isoladamente ou combinada com o procedimento microcirúrgico DRA, também apresenta resultados clínicos agradáveis. Embora tenham sido efetuados vários estudos *in vitro* e *in vivo*, até à data não foi realizado nenhum estudo histológico para confirmar a veracidade dos resultados obtidos.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Grupos de estudo	Protocolo	Principais Resultados	Conclusões
T-PRF	Arabaci, 2018	RCT (Avaliação aos 2, 4 e 6 semanas e aos 9 meses)	29	Grupo teste: T-PRF + DRA n1=29 Grupo controle: DRA, n2= 29	2700 rpm 12 minutos	A redução da PS (N1= 4.13; N2= 3.01), ganho de NIC (N1= 3.65; N2= 2.3) e alteração do nível da margem gengival, aos 9 meses, foram significativamente maiores no grupo teste; Ambos os grupos demonstraram níveis aumentados de fatores de crescimento na 2ª semana; mas a concentração de FC foi mais elevada no grupo teste até à 6ª semana de pós-operatório.	A adição de membrana T-PRF favoreceu a liberação de maiores concentrações de FC durante 4 a 6 semanas, e consecutivamente, melhorou a regeneração do DIO.
L-PRF	Thorat, et al., 2017	RCT (Avaliação aos 12 meses)	30	Grupo teste: L-PRF + RM, n1=15 Grupo controle: RM, n2=15	2700 rpm 12 minutos	O ganho médio de NIC e o preenchimento ósseo no grupo teste foram 4,0 mm e 3,09 mm, respetivamente, enquanto, no grupo controle: NIC = 0,33 mm; preenchimento de defeito ósseo – 1,67 mm. Relativamente à PS: N1= 4; N2=1,5; Quase 80% dos locais tratados com PRF mostraram preenchimento ósseo $\geq 50\%$ com recessão mínima de gengiva marginal.	O uso de L-PRF aumentou significativamente os resultados clínicos e radiológicos.
L-PRF	Patel et al., 2017	RCT (Avaliação aos 6,9 e 12 meses)	13	Grupo teste: L-PRF + DRA n1=13 Grupo controle: DRA n2=13	3000 rpm 10 minutos	O grupo L-PRF apresentou resultados mais favoráveis clinicamente, em comparação ao grupo controle aos 6, 9 e 12 meses. Aos 12 meses, o grupo PRF apresentou preenchimento ósseo de $45,18\% \pm 7,57\%$, enquanto o grupo controle apresentou $21,6\% \pm 9,3\%$. O grupo L-PRF também mostrou uma melhor cicatrização de tecidos moles e redução na PS (n1= $4.2 \pm 1.69\text{mm}$; n2= $2.40 \pm 0.84\text{mm}$), NIC (n1= $3.70 \pm 0.64\text{mm}$; n2= 2.1 ± 0.74).	As membranas L-PRF apresentaram benefícios regenerativos.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Grupos de estudo	Protocolo	Principais Resultados	Conclusões
L-PRF	Pradeep et al., 2017	RCT (Avaliação aos 9 meses)	57	Grupo teste 1: L-PRF+HA+DRA n1=30 Grupo teste 2: L-PRF+DRA n2=30 Grupo controle: DRA, n3=30	3000 rpm 10 minutos	A redução média da PD foi maior nos grupos PRF ($3,90 \pm 1,09$ mm) e PRF + HA ($4,27 \pm 0,98$ mm) do que no grupo controle ($2,97 \pm 0,93$ mm), o ganho médio de NIC foi maior no PRF ($3,03 \pm 1,16$ mm) e PRF + HA ($3,67 \pm 1,03$ mm) em comparação com os controles ($2,67 \pm 1,09$ mm). Além disso, uma percentagem significativamente maior de preenchimento do defeito ósseo foi observada nos grupos PRF ($56,46\% \pm 9,26\%$) e PRF + HA ($63,39\% \pm 16,52\%$), comparativamente ao grupo controle ($15,96\% \pm 13,91\%$).	A aplicação de L-PRF resulta numa melhoria significativa dos resultados clínicos avaliados. Ao combinar L-PRF com HA os resultados regenerativos foram superiores.
T-PRF/ L-PRF	Chatterjee et al., 2017	RCT (Avaliação aos 3, 6 e 9 meses)	38	Grupo teste 1: T-PRF + DRA n1=25 Grupo teste 2: L-PRF+DRA n2=25 Grupo controle: DRA, n3=25	T-PRF: 3000 rpm 10 minutos L-PRF: 373.3 g 10 minutos	Observou-se que os grupos testes, após 9 meses apresentaram resultados mais favoráveis de redução de PS (n1=6.25mm; n2=5.46mm; n3=3.68mm) profundidade do defeito (n1=76.45%; n2=73.09%; n3=54.22%) e ganho de NIC (n1=6.74mm; n2=6.57mm; n3=4.14mm) relativamente ao grupo controle. Por sua vez, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos teste 1 e 2.	Tanto o L-PRF como o T-PRF apresentaram benefícios regenerativos.
L-PRF	Panda et al., 2016	RCT (Avaliação aos 9 meses)	16	Grupo teste: L-PRF + RTG, n1=16; Grupo controle: MC+RTG, n2=16	3000 rpm 10 minutos	O grupo teste mostrou melhorias significativas na redução de PS (n1=3,88mm; n2=3,19mm) redução radiográfica da profundidade do defeito e ganho de NIC (n1=4,44mm; n2=3,38mm). A redução da profundidade do defeito radiográfico foi de 58,19% no grupo teste e $24,86 \pm 9,94\%$ no grupo de controle.	O uso de L-PRF+ membrana de barreira foi mais eficaz do que a aplicação de membrana MA em ROG.
L-PRF	Agarwal et al., 2016	RCT (Avaliação aos 9 meses)	58	Grupo teste: L-PRF+MOBDP n1=30 Grupo controle: MOBDP n2=28	400 g 12 minutos	O grupo PRF + MOBDP exibiu alterações estatisticamente superiores ao grupo MOBDP nos parâmetros PS (n1=4,15mm; n2=3,60mm), NIC (n1=3,73mm; n2=2,61mm), RG (n1=0,47mm; n2=1,00mm), preenchimento ósseo (n1=3,50mm; n2=2,49mm).	A combinação de L-PRF e MOBDP foi mais eficaz do que a aplicação do enxerto MOBDP isoladamente.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Grupos de estudo	Protocolo	Principais Resultados	Conclusões
L-PRF	Shah et al., 2015	RCT (Avaliação aos 6 meses)	40	Grupo teste: L-PRF + DRA n1=20 Grupo controle: MOBDP+DRA n2=20	3000 rpm 10 minutos	Os resultados clínicos obtidos foram semelhantes entre os dois grupos de estudo, quer seja na redução da PS (n1=3,67mm; n2= 3,70mm), ganho de NIC (n1=1,97mm; n2=2,97mm) ou na RG (n1=0,43mm; n2=0,72mm).	O L-PRF mostrou resultados de regeneração periodontal bons e semelhantes aos do enxerto MOBDP.
L-PRF	Elgendy & Shady, 2015	RCT (Avaliação aos 6 meses)	20	Grupo teste: L-PRF + NcHA n1=20 Grupo controle: NcHA, n2=20	3000 rpm 10 minutos	Ambos os grupos mostraram uma redução significativa de PS (n1=3,90mm; n2=3,55mm), aumento de NIC (n1=3,90; n2=3,55mm) e aumento da densidade óssea. No entanto, houve uma redução significativamente maior de PS e ganho de NIC quando o PRF é combinado com NcHA.	O L-PRF apresentou vantagens clínicas regenerativas, quando foi adicionado ao enxerto NcHA.
L-PRF	Gupta et al., 2014	RCT (Avaliação aos 6 meses)	30	Grupo teste: L-PRF n1=22 Grupo controle: PME n2=22	3000 rpm 10 minutos	O grupo controle apresentou uma resolução de defeito significativamente maior (43,07%) do que o grupo teste (32,41%). A redução de largura e ângulo do defeito foram significativas em ambos os grupos, tal como a redução de PS e aumento de NIC.	Apesar do L-PRF ter mostrado efeitos regenerativos satisfatórios, os resultados das PME foram mais favoráveis.
L-PRF	Lekovic et al., 2012	RCT (Avaliação aos 6 meses)	17	Grupo teste: L-PRF+BPBM n1=17 Grupo controle: L-PRF n2=17	1000g 10 minutos	Observou-se uma redução significativamente maior de PS no grupo teste (4,47mm em vestibular e 4,29mm em lingual) quando comparado com o grupo controle (3,35mm em vestibular e 3,24mm em lingual). O grupo teste também apresentou um maior aumento de NIC (n1=3,82mm em vestibular e 3,71mm em lingual; n2=2,24mm em vestibular e 2,12mm em lingual). O preenchimento do defeito também foi maior no grupo PRF-BPBM (n1=4,06mm em vestibular e 3,94mm em lingual; n2= 2,21 mm em vestibular e 2,06 mm em lingual).	Os resultados indicaram que o L-PRF combinado com o biomaterial BPBM teve u efeito regenerativo muito superior ao L-PRF aplicado isoladamente.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Grupos de estudo	Protocolo	Principais Resultados	Conclusões
L-PRF/PRP	Pradeep et al., 2012	RCT (Avaliação aos 9 meses)	90	Grupo teste 1: L-PRF+DRA, n1=30 Grupo teste 2: PRP + DRA, n2=30 Grupo controle DRA, n3=30	3000 rpm 10 minutos	A redução da PS e o ganho de NIC foram maiores nos grupos PRF (3,77mm e 3,17mm) e PRP (3,77mm e 2,93mm) do que no grupo controle (2,97mm e 2,83mm). Além disso, uma percentagem significativamente maior de preenchimento ósseo foi encontrada nos grupos PRF (55,41%) e PRP (56,85%) comparativamente ao grupo controle (1,56%).	Tanto o L-PRF quanto o PRP mostraram bons resultados na redução da PS, ganho - NIC e preenchimento ósseo radiológico.
PRP	Ozdemir et al., 2012	RCT (Avaliação aos 6 meses)	14	Grupo teste: PRP+ β -TCP, n1=14 Grupo controle: β -TCP, n2=14	2400 rpm 10 minutos	Foram observadas reduções estatisticamente significativas de PS, RG e profundidade do defeito em ambos os grupos. Os valores medianos de NIC diminuíram de 7,0 para 6,0 mm no grupo controle e de 7,5 para 5,0 mm no grupo teste. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detetada entre os dois grupos para todos os parâmetros avaliados.	Não foram encontrados benefícios terapêuticos da adição de PRP ao β -TCP.
L-PRF	Sharma & Pradeep, 2011b	RCT (Avaliação aos 9 meses)	58	Grupo teste: L-PRF + DRA n1=30 Grupo controle: DRA n2=28	3000 rpm 10 minutos	A redução de PS foi maior no grupo teste (4,55 mm) do que no grupo controle (3,21 mm), e o ganho médio de NIC foi também superior no grupo teste (3,31mm) em comparação ao grupo controle (2,77mm). Além disso, o grupo teste apresentou uma percentagem de preenchimento ósseo superior (48,26%) ao grupo controle (1,80%)	A aplicação de L-PRF melhorou os resultados clínicos obtidos, maior redução da PS, ganho de NIC e preenchimento ósseo.
PRP	Bharadwaj et al., 2011	RCT (Avaliação aos 6 meses)	10	Grupo teste: PRP+HA + β -TCP, n1=10 Grupo controle: HA + β -TCP, n2=10	1º centrifugação: 5000 rpm 10 minutos 2º centrifugação: 2000 rpm 10 minutos	Os resultados mostraram que o grupo teste apresentou uma redução significativamente maior de PS (n1=4,03mm; n2=3,3mm), ganho de NIC (n1=4,4mm; n2=2,9mm) e ainda uma quantidade significativamente maior de radio densidade óssea (n1=3,0%; n2=0,6%)	O PRP quando combinado com HÁ+ β -TCP apresentou benefícios nos resultados clínicos obtidos.

Tabela 6 – Concentrados plaquetários em defeitos infra-ósseos.

Nota: Os resultados numéricos estão representados pela mediana dos valores obtidos nos estudos.

6.3.2. Aplicação de concentrados plaquetários em defeitos de furca

Segundo a *American Academy of Periodontology*, um defeito ósseo com envolvimento de furca ocorre quando a doença periodontal provoca reabsorção óssea na zona anatômica de divergência radicular em dentes multirradiculares.

As taxas de sobrevivência a 5 anos de dentes com defeitos de furca sujeitos a tratamento regenerativo variam de 83% a 100%. No entanto, nem todos os defeitos de furca conseguem ser regenerados, pelo que o tratamento mais adequado depende sempre do tipo e da localização do defeito (Aichelmann-Reidy et al., 2015).

A morfologia da lesão de furca apresenta características frequentemente análogas às de um defeito ósseo horizontal. Posto isto, a formação de nova inserção encontra-se dependente de um crescimento coronário do ligamento periodontal, que é dificultado pelo menor aporte sanguíneo devido à escassez de paredes ósseas. Estes fatores constituem um verdadeiro obstáculo ao posicionamento efetivo das margens do retalho e à contenção do próprio material regenerativo e do coágulo sanguíneo, tão crucial nas fases iniciais da cicatrização. Por estas razões a regeneração de defeitos de furca pode ser considerado um desafio terapêutico (Lindhe, 2015; Panda et al., 2016).

Na sequência dos resultados positivos da aplicação de concentrados plaquetários no tratamento de defeitos infra-ósseos, é interessante analisar se o mesmo acontece em defeitos profundos. Neste contexto foram selecionados e analisados 6 RCTs, publicados na última década, como descrito na tabela 7.

A avaliação dos CPs combinada com o procedimento microcirúrgico DRA, foi abordada em 2 RCT (Sharma and Pradeep, em 2011a; Bajaj et al., 2013).

Sharma and Pradeep, em 2011a, avaliaram a eficácia do L-PRF através da participação de 36 pacientes com defeitos de furca mandibular grau II. Metade da amostra foi tratada com L-PRF e técnica de retalho a campo aberto (DRA), enquanto os 18 pacientes restantes realizaram tratamento segundo a técnica DRA, ou seja, sem aplicação L-PRF. Foram avaliados o índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica vertical e horizontal, nível da gengiva marginal e profundidade do defeito ósseo radiográfico, no início do estudo e 9 meses após cirurgia. Todos os parâmetros clínicos e radiográficos mostraram melhorias significativas nos locais tratados com PRF e DRA

comparativamente aos tratados com DRA isoladamente. O preenchimento ósseo obtido no grupo L-PRF foi $50.8 \pm 6.24 \%$, a taxa de tratamento completo de 66.7% e os valores médios de PS diminuíram de $3.97 \pm 0.295 \text{ mm}$ para $1.97 \pm 0.376 \text{ mm}$. Deste modo, o L-PRF aparenta ser eficaz na regeneração de defeitos de furca, e podemos qualificá-lo como um biomaterial de cicatrização e de interposição com importantes propriedades mecânicas adesivas.

Poucos anos depois, Bajaj et al., 2013, realizaram um estudo com o objetivo de comparar a eficácia do PRP e do PRF em cirurgias de correção de defeitos de furca. O estudo contou com uma amostra de 72 defeitos divididos aleatoriamente pelos grupos: L-PRF+DRA, PRP+DRA e DRA. Todos os parâmetros clínicos (PS, HNIC, VNIC, recessão gengival) e radiológicos mostraram resultados mais favoráveis nos grupos teste (L-PRF e PRP) em comparação ao grupo controlo (DRA). Os valores obtidos no grupo tratado com PRF vão ao encontro dos bons resultados obtidos no estudo anterior (Sharma & Pradeep, 2011a). Contudo, o tratamento com PRP proporcionou resultados ligeiramente superiores aos verificados num estudo semelhante de Pradeep et al., 2009.

De qualquer forma não foram detetadas diferenças nos resultados obtidos com L-PRF e PRP, como se pode analisar na PS (PS inicial - $4.09 \pm 0.30 \text{ mm}$ vs. $4.18 \pm 0.27 \text{ mm}$; PS final - $2.33 \pm 0.43 \text{ mm}$ e $2.32 \pm 0.35 \text{ mm}$). Mas o CP eleito continua a ser o L-PRF devido às inúmeras vantagens técnicas.

Analizou-se o efeito dos CP isolados ou combinados com enxertos ósseos alógenos (Siddiqui et al., 2016; Asimuddin et al., 2017).

O objetivo do estudo de Siddiqui et al., 2016, foi avaliar clinicamente e radiograficamente a eficácia do L-PRF e do material aloplástico β -TCP no tratamento de defeitos de furca mandibular grau II, utilizando como grupo de controlo a técnica DRA. Como seria de esperar, no grupo controlo verificaram-se modestas melhorias nos resultados clínicos e radiológicos, sendo estes significativamente inferiores aos resultados dos grupos experimentais. Os valores de redução no PS, ganho VNIC e HNIC foram maiores no Grupo DAR+ β -TPC, tal como a percentagem média de preenchimento de defeito ósseo vertical (DAR+ β -TPC = $58,52\%$; L-PRF+DAR = $53,24\%$). Conclui-se que para ambos os grupos houve diferenças estatisticamente significativas de regeneração do defeito de furca, todavia

a regeneração pela técnica DAR+ β -TPC parece mais favorável, o que seria de esperar pois o β -TCP diminui a taxa de reabsorção óssea.

Um outro estudo *split mouth* realizado por Asimuddin et al., 2017, testou 22 pacientes com defeitos de furca grau II, de forma a comparar o efeito do L-PRF combinado com um aloenxerto de osso desmineralizado liofilizado (DFDBA) com uma membrana barreira de colagénio + DFDBA, em cirurgias de RTG. Os resultados de PS, HNIC e nível da margem gengival avaliados inicialmente e 9 meses após as cirurgias, apesar de bastante significativos foram semelhantes entre os dois grupos, todavia relativamente ao ganho de VNIC, registaram-se valores significativamente superiores (4.19 ± 0.99 mm no grupo PRF, face aos 3.61 ± 0.78 mm no grupo controlo), tal como se registaram melhorias significativa de preenchimento do defeito ósseo no grupo PRF (3.09 ± 0.83 mm vs. 2.55 ± 0.52 mm). Este estudo indica que o L-PRF parece ser um bom coadjuvante do DFDBA em RTG, no entanto a sua eficácia deve continuar a ser estudados, pois não existe evidência científica suficiente que o comprove.

Além da perspetiva clínica, o L-PRF é também viável de uma perspetiva biológica e económica, pois pode ser utilizado como membrana e material de preenchimento, substituindo as abordagens convencionais, mais dispendiosas, em cirurgias regenerativas de defeitos de furca.

Relativamente à utilização de CP em combinação com outros materiais, os estudos de Kanoriya et al., 2017, e Pradeep et al., 2016, avaliaram a ação do L-PRF quando associado a outras abordagens, nomeadamente farmacológicas, através de estudos randomizados aleatorizados compostos por 3 grupos de estudo cada. Os primeiros autores testaram a eficácia do L-PRF com gel de Alendronato 1% (ALN), enquanto os segundos abordaram o efeito do L-PRF combinado com um gel de Rosuvastatina 1,2 mg (RSV) e um material aloplástico (*Porous hydroxyapatite* – HA). Ambos utilizaram um segundo grupo experimental, onde se efetuou a mesma associação de materiais, à exceção do respetivo fármaco. Como grupo controlo apenas sujeitaram os pacientes ao procedimento DRA.

A RSV é um fármaco do grupo das estatinas, apontado como tendo uma importante função nos mecanismos anti-inflamatórios e de diferenciação osteogénica. Em contrapartida, o ALN pertence à família dos bisfosfonatos e atua na prevenção da reabsorção óssea. Embora, o papel destes fármacos não esteja totalmente esclarecido e fundamentado no âmbito

da regeneração periodontal, surgem como uma possível associação aos CPs. Efetivamente, em ambos os estudos observaram-se melhorias significativas de preenchimento ósseo, ganho de inserção clínica horizontal e vertical e redução de PS (5.93 ± 0.23 mm e 5.22 ± 2.64 mm) para valores congruentes com lesões de furca grau I (2.25 ± 0.15 mm e 2.29 ± 0.17 mm). Desta forma, é possível constatar um efeito sinérgico nos defeitos ósseos profundos aquando da aplicação dos fármacos ALN e RSV, amplificando a ação regenerativa do L-PRF.

Também no estudo de Kanoriya et al., 2017, foi possível analisar que o L-PRF melhora os efeitos clínicos do procedimento microcirúrgico DRA. De facto, observa-se que o grupo de estudo tratado com L-PRF em monoterapia conseguiu atingir valores finais de PS muito inferiores (2.64 ± 0.14 mm) aos do grupo tratado exclusivamente com DRA (4.56 ± 0.29 mm).

Em suma, podemos concluir que os concentrados plaquetários têm capacidade de acelerar a cicatrização e melhorar a regeneração óssea de defeitos de furca, quer combinados com enxertos ósseos ou fármacos, quer isoladamente com a técnica microcirúrgica de desbridamento a retalho aberto. No entanto os enxertos ósseos ou agente químicos tem maior previsibilidade terapêutica.

O efeito dos concentrados de plaquetas como membrana de barreira em RTG tem obtido resultados interessantes, no entanto necessita de uma maior evidência científica.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Grupos de estudo	Protocolo	Principais Resultados	Conclusões
L-PRF	Asimuddin et al., 2017	RCT (Avaliação aos 9 meses)	22	Grupo teste: L-PRF+ DFDBA, n1= 11 Grupo controle: membrana colagénio + DFDBA, n2=11	3000 rpm 10 minutos	A comparação entre os grupos para PS, HNIC e LGQ não foi estatisticamente significativa. Em relação ao RVCAL (n1=4,19±0,99mm; n2=3,61±0,78 mm) e preenchimento ósseo (n1=3,09±0,82mm; n2=2,55±0,52 mm) foram observados melhores resultados no grupo 1.	A combinação do L-PRF com o aloenxerto DFDBA apresentou resultados terapêuticos promissores, no entanto são necessários mais estudos com uma amostra maior e período de avaliação mais longo.
L-PRF	Kanoriya et al., 2017	RCT (Avaliação aos 9 meses)	68	Grupo teste 1: L-PRF+1% ALN, n1= 22 Grupo de teste2: L-PRF+DRA n2=22 Grupo controle: DRA, n3=22	3000 rpm 10 minutos	O Grupo 1 apresentou maior redução da PS e ganho de VNIC e HNIC quando comparado aos grupos 2 e 3. Além disso, o grupo 1 obteve uma percentagem significativamente maior de preenchimento de defeito radiológico (56,01% ± 2,64%) quando comparados com o grupo 2 (49,43% ± 3,70%) e o grupo 3 (10,25% ± 3,66%).	O tratamento de L-PRF combinado com gel de ALN a 1% resultou numa eficácia terapêutica significativa quando comparado com o procedimento L-PRF+DRA. A combinação de ALN com PRF tem potencial de regeneração de defeitos de furca.
L-PRF	Siddiqui et al., 2016	RCT (Avaliação aos 6 meses)	31	Grupo teste 1: L-PRF+DRA, n1=15 Grupo de teste 2: β-TCP+DRA, n2=15 Grupo controle: DRA, n3=15	2700 rpm 12 minutos	A redução de PS e o ganho em VNIC e HNIC foram maiores no Grupo 2. A percentagem média do preenchimento do defeito a nível vertical foi maior no Grupo 2 comparativamente ao Grupo 1 (58,52% ± 11,68% vs. 53,24% ± 13,22%, respetivamente). A redução de altura vertical da furca foi maior no Grupo 1; A redução de profundidade horizontal da furca e aumento LGQ foram maiores no Grupo 2.	Observaram-se melhorias regenerativas significativas com a aplicação de L-PRF ou β-TCP, apesar de da regeneração ser mais favorável com o biomaterial β-TCP.
L-PRF	Pradeep et al., 2016	RCT (Avaliação aos 9 meses)	75	Grupo teste 1: L-PRF+1,2 mg RSV gel + HA n1=25 Grupo teste 2: L-PRF + HA+ DRA n2=25 Grupo controle: DRA + gel placebo n3=25	3000 rpm 10 minutos	A aplicação de L-PRF aumentou significativamente os resultados nos parâmetros clínicos avaliados comparativamente ao DRA sozinho. A adição de 1,2% de gel de RSV ao L-PRF resultou num ganho de NIC significativamente maior e redução de PS e do defeito.	A RSV (1,2%) aumenta os benefícios regenerativos do L-PRF.

Concentrado Plaquetário	Autores (ano)	Tipo de estudo	Amostra	Grupos de estudo	Protocolo	Principais Resultados	Conclusões
L-PRF/PRP	Bajaj et al., 2013	RCT Comparativo	72	Grupo teste: L-PRF+DRA, n1= 24 Grupo teste: PRP +DRA, n2= 25 Grupo controlo: DRA, n3= 23	L-PRF 3000 rpm 10 minutos PRP 400 g for 10 min	Todos os parâmetros clínicos e radiológicos mostraram melhorias estatisticamente significativas em ambos os locais testes (L-PRF com DRA e PRP com DRA) em comparação ao DRA sozinho. O VNIC também foi maior nos locais L-PRF ($2,87 \pm 0,85$ mm) e PRP ($2,71 \pm 1,04$ mm) em comparação aos locais controlo ($1,37 \pm 0,58$ mm); O ganho de HNIC foi superior nos grupos 1 e 2 também.	O uso de L-PRF ou PRP foi eficaz no tratamento regenerativo de defeitos de furca.
L-PRF	Sharma & Pradeep, 2011a	RCT	36	Grupo teste: L-PRF+DRA, n1=18 Grupo controlo: DRA, n=18	3000 rpm 10 minutos	Todos os parâmetros clínicos e radiográficos mostraram melhorias estatisticamente significativas nos locais tratados com L-PRF e DRA.	Dentro das limitações deste estudo, concluem-se melhorias significativas no grupo L-PRF o que sugere o seu papel como um biomaterial regenerativo no tratamento de defeitos de furca.

Tabela 7 – Concentrados plaquetários nem defeitos de furca (DRA+PRF vs. DRA+PRP vs. DRA; PRF+DRA vs. DRA; PRF/DFDBA vs. DFDBA + membrana colagénio).

6.4.Outras aplicações

São várias as aplicabilidades clínicas dos concentrados de plaquetas em cirurgia oral. Segundo Pinto et al., 2018, para além das aplicações em Periodontologia já abordadas, podemos também usar preparados de PRF para preservação da crista alveolar após extração dentária, em cirurgias de elevação do seio maxilar, no tratamento de peri-implantite ou como coadjuvante da osteointegração através da impregnação de membrana PRF no implante.

Devido à popularização do PRF têm sido propostas várias aplicações sem resultados clínicos válidos e conclusivos. Um exemplo disso é a aplicação de membranas L-PRF no tratamento de peri-implantite (Miron et al., 2017; Strauss, 2018).

Em ambos os procedimentos cirúrgicos, quer de preservação do rebordo e crista alveolar, quer de elevação do seio maxilar, estão relatados resultados clínicos satisfatórios (Miron et al., 2017). Após a extração dentária ocorre reabsorção do osso alveolar no sentido vertical e horizontal. Para contrariar esta situação, a fim de posteriormente reabilitar com implantes, é necessário preservar as dimensões da crista alveolar. Castro et al., 2017, realizou uma revisão sistemática para avaliar o efeito da aplicação de membranas ou *plugs* de fibrina rica em plaquetas em alvéolos pós extração e concluiu que o L-PRF utilizado isoladamente melhora a preservação da dimensão da crista alveolar comparativamente à cicatrização espontânea. Nesta situação, as membranas de fibrina irão agir como um coágulo sanguíneo estável. Segundo Yelamali et al., 2015, a utilização da membrana de fibrina, influência a qualidade óssea do alvéolo, já que após 4 meses do procedimento os alvéolos tratados com os concentrados plaquetários são histologicamente semelhantes ao osso nativo. Além disso, o PRF proporciona uma cicatrização e regeneração mais rápidas e eficazes, com menor dor e inflamação pós-operatória. Um outro método de preservação da dimensão do osso alveolar deve-se à aplicação de *sticky bone* no alvéolo (Pinto et al., 2019).

Na cirurgia de elevação do seio maxilar, a aplicação de CPs pode ser sob forma de membranas ou *sticky bone*, com enxerto ósseo autógeno (o osso é recolhido ao fazer acesso de “janela”) ou biomaterial (Pinto et al., 2019). Vários estudos, nomeadamente Castro et al., 2017, confirmaram uma regeneração óssea natural ao redor dos implantes

em cirurgias de elevação do seio maxilar. Vários autores concluíram que este material poderá promover a regeneração óssea natural dado que foi produzido tecido denso semelhante a osso no local onde se alojava a membrana. Todavia, são necessários mais testes para comprovar a sua viabilidade (Pinto et al., 2019).

7. Objetivos futuros

Após uma intensa pesquisa sobre a temática abordada nesta revisão bibliográfica, é possível constatar que existe uma enorme variedade de estudos, no entanto a grande maioria deles apresenta fortes limitações. Associado a isto, observa-se também uma divergência de opiniões relativamente à eficácia dos concentrados plaquetários em estudos semelhantes. Torna-se assim necessário continuar o desenvolvimento e pesquisa sobre os benefícios e aplicações dos CPs, pois é uma área com ainda muito por discernir.

Constatou-se também que o principal problema para a variabilidade de resultados obtidos prende-se com o facto de existir uma grande diversidade de protocolos para o mesmo produto, e produtos diferentes terem denominações iguais. É por isso necessária a formulação de uma classificação e padronização dos protocolos simples, concisa e fácil de consultar, com as indicações das várias terapias plaquetárias disponíveis, proporcionando aos Médicos e Médicos Dentistas uma opção clara na escolha e empregabilidade destas técnicas regenerativas.

Seria também relevante realizar mais estudos comparativos entre os PRPs e L-PRFs, a fim de demonstrar as vantagens/desvantagens e indicações de cada técnica. Outro aspecto a ter em consideração seria uma exploração aprofundada sobre as aplicações destas terapias em pacientes com patologias sistémicas que afetem a coagulação, produção de plaquetas ou inibição da fibrina, como é o caso da Diabetes Mellitus, patologias hematológicas ou oncológicas. Até hoje, tudo indica que não haja qualquer tipo de oposição à aplicação de concentrados plaquetários, no entanto não existem estudos que comprovem esta teoria.

III. CONCLUSÃO

Com a presente revisão bibliográfica conclui-se que a aplicação de concentrados plaquetários em periodontologia apresenta diversas vantagens clínicas. Além de resultados clínicos promissores, desde o controlo da hemóstase, redução do tempo de cicatrização e estimulação da regeneração tecidular, os CPs são biomateriais autólogos, ou seja, fisiologicamente compatíveis com os tecidos humanos e por isso apresentam um risco mínimo de complicações pós-operatórias.

Os fatores de crescimento, provenientes das plaquetas, são fundamentais no processo de regeneração tecidular participando nas diversas fases: inflamação, formação de tecido de granulação, reepitelização, formação e remodelação da matriz celular, promovendo a quimiotaxia, angiogénese, proliferação e diferenciação celular.

Os CPs podem ser aplicados como membrana de proteção, material de preenchimento isoladamente ou como coadjuvante de enxertos gengivais ou ósseos. Em cirurgia periodontal verificou-se que:

- O efeito dos concentrados plaquetários em cirurgias de recobrimento radicular é um tema controverso, pois apresenta uma heterogeneidade de resultados. Todavia, podemos concluir que os CPs são bons coadjuvantes do ETC.
- Os CPs apresentam benefícios cicatrizantes e regenerativos no palato após recolha de enxertos gengivais, e consequentemente, ainda diminuem a morbidade pós-operatória;
- Os CPs têm um potencial terapêutico em cirurgias regenerativas periodontais, quer na regeneração de defeitos infra-ósseos, quer em defeitos de furca. Usados isoladamente apresentam resultados favoráveis, mas quando combinados com enxerto ósseo, quer sob a forma de membrana ou *sticky bone*, a regeneração dos defeitos é melhor e mais previsível;
- Os CPs também podem ser usados em cirurgias de preservação da crista alveolar após extração dentária ou em cirurgias de elevação do seio maxilar.

Mais recentemente, os CPs têm surgido no tratamento de peri-implantite, mas ainda não existe evidência científica suficiente que sustente esta teoria.

Os concentrados plaquetários de 2ª geração são os mais usados em cirurgia periodontal por deterem protocolos mais simples, práticos e económicos e não necessitarem da adição de compostos exógenos. Por esta razão, o L-PRF é o CP mais estudado em periodontologia e por isso é o que evidencia resultados e conclusões mais fiáveis e previsíveis.

É de salientar ainda, que se observou várias disparidades de resultados entre estudos com protocolos e métodos cirúrgicos semelhantes. Isto pode dever-se à elevada diversidade de CPs com denominações semelhantes e protocolos de centrifugação diferentes e às condições de manipulação e preparação dos mesmos.

O sucesso do tratamento com PRF ou PRP depende do rigor da preparação, padronização do protocolo e armazenamento dos CPs. De forma a melhorar a confiabilidade e previsibilidade clínicas destes biomateriais é necessário efectuar melhorias na padronização e formulação dos mesmos.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Agarwal, A., Gupta, N. D., & Jain, A. (2016). Platelet rich fibrin combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony periodontal defects: A randomized split mouth clinical trail. *Acta Odontologica Scandinavica*, 74(1), 36–43. <https://doi.org/10.3109/00016357.2015.1035672>;
- Agrawal, A. A. (2017). Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World Journal of Clinical Cases*, 5(5), 159-171. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v5.i5.159>;
- Aichelmann-Reidy, M. E., Avila-Ortiz, G., Klokkevold, P. R., Murphy, K. G., Rosen, P. S., Schallhorn, R. G., Sculean, A., Wang, H.-L., & Reddy, M. S. (2015). Periodontal Regeneration — Furcation Defects: Practical Applications From the AAP Regeneration Workshop. *Clinical Advances in Periodontics*, 5(1), 30–39. <https://doi.org/10.1902/cap.2015.140068>;
- Al-hamed, F. S., Mahri, M., Al-waeli, H., & Torres, J. (2019). Regenerative Effect of Platelet Concentrates in Oral and Craniofacial Regeneration. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 6(126), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00126>;
- Alpan, Aysan Lektemur & Cin, G. T. (2019). PRF improves wound healing and postoperative discomfort after harvesting subepithelial connective tissue graft from palate: a randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 24(1), 425–436. <https://doi.org/10.1007 / s00784-019-02934-9>;
- Alves, R., & Grimalt, R. (2018). A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disorders*, 4(1), 18–24. <https://doi.org/10.1159/000477353>;
- Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P., & Nurden, A. T. (2004). Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis*, 91(1), 4–15. <https://doi.org/10.1160/TH03-07-0440>;
- Anitua, E., Prado, R., Sánchez, M., & Orive, G. (2012). Platelet-Rich Plasma: Preparation and Formulation. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 22(1), 25–32. <https://doi.org/10.1053/j.oto.2012.01.004>;

- Arabaci, T., & Albayrak, M. (2018). Titanium-prepared platelet-rich fibrin provides advantages on periodontal healing: A randomized split-mouth clinical study. *Journal of Periodontology*, 89(3), 255–264. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0294>;
- Asimuddin, S., Koduganti, R. R., & Panthula, R. (2017). Effect of Autologous Platelet Rich Fibrin in Human Mandibular Molar Grade II Furcation Defects- A Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(4), 73–77. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23277.9694>;
- Bahammam, M. A. (2018). Effect of platelet-rich fibrin palatal bandage on pain scores and wound healing after free gingival graft: a randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 22(9), 3179–3188. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2397-y>;
- Bajaj, P., Pradeep, A. R., Agarwal, E., Rao, N. S., Naik, S. B., Priyanka, N., & Kalra, N. (2013). Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects: A randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontal Research*, 48(5), 573–581. <https://doi.org/10.1111/jre.12040>;
- Bharadwaj T, Doraiswamy J, Padmalatha O, Sheeja V. (2011). Treatment of human periodontal infrabony defects with hydroxyapatite + β tricalcium phosphate bone graft alone and in combination with platelet rich plasma: A randomized clinical trial. *Indian Journal of Dental Research*, 22(4), 505-510. <https://doi/10.4103/0970-9290.90278>;
- Bielecki1, T., Dohan Ehrenfest, D. M., Everts, P, A., & Wiczowski, A. (2012). The Role of Leukocytes from L-PRP/L-PRF in Wound Healing and Immune Defense: New Perspectives. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1153-1162. <http://10.2174/138920112800624373>;
- Borie, E., Oliví, D. G., Orsi, I. A., Garlet, K., Weber, B., Beltrán, V., & Fuentes, R. (2015). Platelet-rich fibrin application in dentistry: A literature review. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(5), 7922–7929;
- Bozkurt Doğan, Ş., Öngöz Dede, F., Balli, U., Atalay, E. N., & Durmuşlar, M. C. (2015). Concentrated growth factor in the treatment of adjacent multiple gingival recessions:

- A split-mouth randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(9), 868–875. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12444>;
- Brucoli, M., Sonzini, R., Bosetti, M., Boffano, P., & Benech, A. (2018). Plasma rich in growth factors (PRGF) for the promotion of bone cell proliferation and tissue regeneration. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 22(3), 309–313. <https://doi.org/10.1007/s10006-018-0712-z>;
- Caruana, A., Savina, D., Macedo, J. P., & Soares, S. C. (2019). From Platelet-Rich Plasma to Advanced Platelet-Rich Fibrin: Biological Achievements and Clinical Advances in Modern Surgery. *European Journal of Dentistry*, 13(2), 280–286. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1696585>;
- Castro, A. B., Meschi, N., Temmerman, A., Pinto, N., Lambrechts, P., Teughels, W., & Quirynen, M. (2017). Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(1), 67–82. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12643>;
- Castro, H. C., Ferreira, B. L. A., Nagashima, T., Schueler, A., Rueff, C., Camisasca, D., Moreira, G., Scovino, G., Borges, L., Leal, M., Filgueira, M., Paschoal, P., Bernardo, V., Bourguinhon, S., Rodrigues, C. R., & Santos, D. O. (2006). Plaquetas: Ainda um alvo terapêutico. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42(5), 321–332. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442006000500004>;
- Catelas, I. (2017). Fibrin. In K. Healy, D. W. Hutmacher, D. W. Grainger, C. J. Kirkpatrick (Eds), *Comprehensive Biomaterials II* (2nd ed. (2), pp. 382-411). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.10203-6>;
- Chandradas, N., Ravindra, S., Rangaraju, V., Jain, S., Dasappa, S., (2016). Efficacy of platelet rich fibrin in the treatment of human intrabony defects with or without bone graft: A randomized controlled trial. *Journal of international society of preventive and community dentistry*, 6(8), 153-159. <http://10.4103 / 2231-0762.189753>;
- Chatterjee, A., Pradeep, A. R., Garg, V., Yajamanya, S., Ali, M. M., & Priya, V. S. (2017). Treatment of periodontal intrabony defects using autologous platelet-rich fibrin and titanium platelet-rich fibrin: a randomized, clinical, comparative study. *Journal of*

- investigative and clinical dentistry*, 8(3), 1–6. <https://doi.org/10.1111/jicd.12231>;
- Choukroun, J. & Ghanaati, S. (2017). Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 44 (1), 87-95. <http://doi.org/10.1007/s00068-017-0767-9>;
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3), 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.011>;
- Cieslik-Bielecka, A., Choukroun, J., Odin, G., & Ehrenfest, D. M. D. (2012). L-PRP / L-PRF in Esthetic Plastic Surgery. *Regenerative Medicine of the Skin and Chronic Wounds. Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1266–1277. <https://doi.org/10.2174 / 138920112800624463>
- Correa-Aravena, J., Alister, J. P., Olate, S., & Manterola, C. (2019). L-PRF y Ciclo Celular. Revisión Narrativa. *International Journal of Odontostomatology*, 13(4), 497–503. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2019000400497>;
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2003). Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. *Periodontology 2000*, 22(1), 104-132. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2220108.x>
- Dhurat, R., & Sukesh, M. (2014). Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 7(4), 189-197. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>;
- Dohan E., M. D., Corso, M. Del, Kang, B., Lanata, N., Quirynen, M., Wang, H., & Pinto, N. R. (2014). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte-and Platelet- The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth fa. *POSEIDO Journal*, 2(2), 155–166. <http://doi.org.10/2014/24932440>

- Dohan E., M. D., Piattelli, A., Sammartino, G., & Wang, H. (2017). New Biomaterials and Regenerative Medicine Strategies in Periodontology , Oral Surgery , Esthetic and Implant Dentistry 2016. *BioMed Research International*, 33(1) 10–13. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/8209507>;
- Dohan Ehrenfest, D. M., Piattelli, A., Sammartino, G., & Wang H-L. (2019). New Biomaterials and Regenerative Medicine Strategies in Periodontology, Oral Surgery, Esthetic and Implant Dentistry 2018. *BioMed Research International*, 1-2. <https://doi.org/10.1155/2019/1363581>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Bielecki, T., Mishra A., Borzini P., Inchingolo, F., Sammartino, G., Rasmusson, L., Everts, P., (2012). In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1131-1137. <http://10.2174/138920112800624328>;
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>;
- Dohan, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>;
- Elgendy E. A., & Abo Shady T. E. (2015). Clinical and radiographic evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite with or without platelet-rich fibrin membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(1), 61-65. <https://doi.org/10.4103 / 0972-124X.148639>;
- Eren, G., Tervahartiala, T., Sorsa, T., & Atilla, G. (2016). Cytokine (interleukin-1 β) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *Journal of Periodontal Research*, 51(4), 481–488. <https://doi.org/10.1111/jre.12325>;

- Escoda-Francoli, J., Sanchez-Garces, M. A., Gimeno-Sandig, A., Munoz-Guzon, F., Barbany-Cairo, J. R., Badiella-Busquets, L. (2018) Guided bone regeneration using beta-tricalcium phosphate with and without fibronectin—An experimental study in rats. *Clinical Oral Implants Restoration*, 29(4), 1038–1049. <http://doi.org/10.1111/clr.13370>;
- Femminella, B., Sinjari, B., Arcangelo, C. D., Paolantonio, M., & Protocols, P. (2015). Clinical Comparison of Platelet Rich Fibrin and a Gelatin Sponge in the Management of Palatal Wounds Following Epithelialized Free Gingival Graft Harvest: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 87(2), 103–113. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150198>;
- Fioravanti, C., Frustaci, I., Armellin, E., Condò, R., Arcuri, C., & Cerroni, L. (2015). Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors. *Oral and Implantology*, 8(4), 96–113. <https://doi.org/10.11138/orl/2015.8.4.096>;
- Fujioka-Kobayashi M. (2017). Optimized Platelet-Rich Fibrin With the Low-Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility, and Cellular Response. *Journal of Periodontology*, 88 (1): 112-121. <http://doi.org/10.1902 / jop.2016.160443>;
- Ghanaati, S., Booms, P., Orlowska, A., Kubesch, A., Lorenz, J., Rutkowski, J., Les, C., Sader, R., Kirkpatrick, C. J., & Choukroun, J. (2014). Advanced platelet-rich fibrin: A new concept for cell- Based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology*, 40(6), 679–689. <https://doi.org/10.1563/aaaid-joi-D-14-00138>;
- Gomes, P. de S., Daugela, P., Poskevicius, L., Mariano, L., & Fernandes, M. H. (2019). Molecular and Cellular Aspects of Socket Healing in the Absence and Presence of Graft Materials and Autologous Platelet Concentrates: a Focused Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Research*, 10(3), 1–18. <https://doi.org/10.5037/jomr.2019.10302>;
- Grassia, V., & Nucci, L. (2020). New materials in oral surgery. *Materials*, 13(5), 11–13. <https://doi.org/10.3390/ma13051034>;
- Guerrero, C. G., & Ronsano, J. B. M. (2015). Physiopathology and treatment of critical bleeding: A literature review. *Farmacia Hospitalaria*, 39(6), 382–398.

- <https://doi.org/10.7399/fh.2015.39.6.8907>;
- Gupta SJ, Jhingran R, Gupta V, Bains VK, Madan R, Rizvi I. (2014). Efficacy of platelet-rich fibrin vs. enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: A clinical and cone beam computed tomography study. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 16(3), 86-96. [https://doi.org/10.1111 / j.1600-051x.1997.tb00253.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1997.tb00253.x);
- Gupta, S., Banthia, R., Singh, P., Banthia, P., Raje, S., & Aggarwal, N. (2015). Clinical evaluation and comparison of the efficacy of coronally advanced flap alone and in combination with platelet rich fibrin membrane in the treatment of Miller Class I and II gingival recessions. *Contemporary Clinical Dentistry*, 6(2), 153–160. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.156034>;
- Guyton, A.C., & Hall, J. E. (2017). *Tratado de Fisiologia Médica* (13th ed.). Elsevier;
- Hartshorne J, G. H. (2016). CLINICAL A comprehensive clinical review of Platelet Rich Fibrin (PRF) and its role in promoting tissue healing and regeneration in dentistry . Part 2: Preparation, optimization, handling and application, benefits and limitations of PRF. *International Dentistry – African Edition*, 6(5), 64–69;
- Jankovic, S., Lekovic, V., Milinkovic, I., Aleksic, Z., Stankovic, P., Kenney, E. B., & Camargo, P. M. (2012). Platelet-rich fibrin and bovine porous bone mineral vs. platelet-rich fibrin in the treatment of intrabony periodontal defects. *Journal of Periodontal Research*, 47(4), 409–417. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01446.x>;
- Kanoriya, D., Pradeep, A. R., Garg, V., & Singhal, S. (2017). Mandibular Degree II Furcation Defects Treatment With Platelet-Rich Fibrin and 1% Alendronate Gel Combination: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 88(3), 250–258. <https://doi.org/10.1902/jop.2016.160269>;
- Keceli, H. G., Kamak, G., Erdemir, E. O., Evginer, M. S., & Dolgun, A. (2015). The Adjunctive Effect of Platelet-Rich Fibrin to Connective Tissue Graft in the Treatment of Buccal Recession Defects: Results of a Randomized, Parallel-Group Controlled Trial. *Journal of Periodontology*, 86(11), 1221–1230. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150015>;

- Kiziltoprak, M., & Uslu, M. Ö. (2018). Historical development and properties of platelet concentrates in dentistry. *Cumhuriyet Dental Journal*, 21(2), 152–166. <https://doi.org/10.7126/cumudj.381546>;
- Kuka, S., Ipci, S. D., Cakar, G., & Yılmaz, S. (2018). Clinical evaluation of coronally advanced flap with or without platelet-rich fibrin for the treatment of multiple gingival recessions. *Clinical Oral Investigations*, 22(3), 1551–1558. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2225-9>;
- Lee, J. W., Hyun Kwon, O., Kim, T. K., Cho, Y. K., Choi, K. Y., Chung, H. Y., Cho, B. C., Yang, J. D., & Shin, J. H. (2013). Platelet-rich plasma: Quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Archives of Plastic Surgery*, 40(5), 530–535. <https://doi.org/10.5999/aps.2013.40.5.530>;
- Lektemur Alpan, A., & Torumtay Cin, G. (2020). PRF improves wound healing and postoperative discomfort after harvesting subepithelial connective tissue graft from palate: a randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 24(1), 425–436. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02934-9>;
- Lindhe, J., & Lang, N. P. (2015). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (6th ed.). Wiley Blackwell;
- Magalon, J., Chateau, A. L., Bertrand, B., Louis, M. L., Silvestre, A., Giraudo, L., Veran, J., & Sabatier, F. (2016). DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*, 2(1), e000060. <https://doi.org/10.1136/bmjsem-2015-000060>;
- Marques, F., Stessuk, T., Cristina, I., Camargo, C., & Junior, N. S. (2015). Platelet-rich plasma (PRP): Methodological aspects and clinical applications. *InformaHealthcare*, 26(2), 101–113. <https://doi.org/10.3109/09537104.2014.881991>;
- Miron, R. J., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Hernandez, M., & Choukroun, J. (2017). Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 23(1), 83–99. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0233>;

- Miron, R. J., Zucchelli, G., & Choukroun, J. (2017). Uses of Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry: An Overview. *Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry: Biological Background and Clinical Indications*, (1st ed., pp. 47–57). Wiley Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781119406792.ch4>;
- Miron, R. J., Zucchelli, G., Pikos, M. A., Salama, M., Lee, S., Guillemette, V., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Wang, H. L., Chandad, F., Nacopoulos, C., Simonpieri, A., Aalam, A. A., Felice, P., Sammartino, G., Ghanaati, S., Hernandez, M. A., & Choukroun, J. (2017). Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical Oral Investigations*, 21(6), 1913–1927. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2133-z>;
- Moraschini, V., & Barboza, E. S. (2016). Use of Platelet-Rich Fibrin Membrane in the Treatment of Gingival Recession: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Periodontology*, 87(3), 281–290. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150420>;
- Mourão, A. B., C. F., Calasans-Maia, M. D., de Mello Machado, R. C., de Brito Resende, R. F., & Alves, G. G. (2018). The use of platelet-rich fibrin as a hemostatic material in oral soft tissues. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 22(3), 329–333. <https://doi.org/10.1007/s10006-018-0708-8>;
- Nasirzade, J., Kargarpour, Z., Hasannia, S., Strauss, F. J., & Gruber, R. (2020). Platelet-rich fibrin elicits an anti-inflammatory response in macrophages in vitro. *Journal of periodontology*, 91(2), 244–252. <https://doi.org/10.1002/JPER.19-0216>;
- Natto, Z. S., & Green, M. S. (2017). A Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin Showed a Regenerative Potential in Intrabony Defects and Furcation Defects but Not in Periodontal Plastic Surgery. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 17(4), 408–410. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2017.10.009>;
- Nording, H. M., Seizer, P., & Langer, H. F. (2015). Platelets in inflammation and atherogenesis. *Frontiers in Immunology*, 6(98), 287–298. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00098>;
- Öncü, E. (2017). The Use of Platelet-Rich Fibrin Versus Subepithelial Connective Tissue Graft in Treatment of Multiple Gingival Recessions: A Randomized Clinical Trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 37(2), 265–271.

<https://doi.org/10.11607/prd.2741>;

Ozcan, M., Ucak, O., Alkaya, B., Keceli, S., Seydaoglu, G., & Haytac, M. (2017). Effects of Platelet-Rich Fibrin on Palatal Wound Healing After Free Gingival Graft Harvesting: A Comparative Randomized Controlled Clinical Trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 37(5), 270–278. <https://doi.org/10.11607/prd.3226>;

Özdemir, B., & Ökte, E. (2012). Treatment of intrabony defects with beta-tricalciumphosphate alone and in combination with platelet-rich plasma. *Journal of Biomedical Materials Research*, 100(4), 976–983. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32660>;

Padma R, Shilpa A, Kumar PA, Nagasri M, Kumar C, Sreedhar A, et al. (2013) A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(5), 631–636. <https://doi/10.4103 / 0972-124X.119281>;

Panda, S., Sankari, M., Satpathy, A., Jayakumar, D., Mozzati, M., Mortellaro, C., Gallesio, G., Taschieri, S., & Del Fabbro, M. (2016). Adjunctive effect of autologous platelet-rich fibrin to barrier membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. *Journal of Craniofacial Surgery*, 27(3), 691–696. <https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000002524>;

Patel, G. K., Gaekwad, S. S., Gujjari, S. K., & S.C., V. K. (2017). Platelet-Rich Fibrin in Regeneration of Intrabony Defects: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Periodontology*, 88(11), 1192–1199. <https://doi.org/10.1902/jop.2017.130710>;

Paulo, S. B., Escalante, O. W., Castro, N. G., Geraldo, V. L., & Carlos, K. M. (2016). Platelet rich fi brin (PRF): A therapeutic alternative in dentistry. *Revista Estomatológica Herediana*, 26(3), 173–178. <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v26n3/a09v26n3.pdf>;

Perez, A. G. M., Lana, J. F. S. D., Rodrigues, A. A., Luzo, A. C. M., Belangero, W. D., & Santana, M. H. A. (2014). Relevant Aspects of Centrifugation Step in the Preparation of Platelet-Rich Plasma. *ISRN Hematology*, 4(1), 3–10.

- <https://doi.org/10.1155/2014/176060>;
- Pinto, N. R., Pereda, A., Jiménez, P., Del Corso, M., Kang, B-S., Wang, H-L., Quirynen, M., Dohan, E. D. M., (2014). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 2: macroscopic, photonic microscopy and Scanning Electron Microscopy analysis of kinds of L-PRF clots and membranes. *POSEIDO Journal*, 2(2), 141-154;
- Pinto, N. R., Temmerman, A., Castro, A. B., Cortellini, S., Teughels, W., & Quirynen, M. (2019). L-PRF: a dream or the future of bone regeneration?. *PerioInsight* 10. https://www.efp.org/fileadmin/uploads/efp/Documents/Perio_Insight/Perioinsight10.pdf;
- Pradeep, A. R., Bajaj, P., Rao, N. S., Agarwal, E., & Naik, S. B. (2017). Platelet-Rich Fibrin Combined With a Porous Hydroxyapatite Graft for the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 88(12), 1288–1296. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.110722>;
- Pradeep, A. R., Garg, V., Kanoriya, D., & Singhal, S. (2016). Platelet-Rich Fibrin With 1.2% Rosuvastatin for Treatment of Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 87(12), 1468–1473. <https://doi.org/10.1902/jop.2016.160015>;
- Pradeep, A. R., Rao, N. S., Agarwal, E., Bajaj, P., Kumari, M., & Naik, S. B. (2012). Comparative Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Plasma in the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 83(12), 1499–1507. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.110705>;
- Rajaram V., Thyegarajan R., Balachandran A., Aari G., Kanakamedala A. (2015) Platelet Rich Fibrin in double lateral sliding bridge flap procedure for gingival recession coverage: An original study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(6), 665–670. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.164764>;
- Rosalin, H., & Yosvimol, K. R. (2017). Effectiveness of platelet-rich fibrin in the

- management of pain and delayed wound healing. *European Journal of Dentistry*, 11(4), 192–195. <https://doi.org/10.4103/ejd.ejd>;
- Roselló-Camps, À., Monje, A., Lin, G. H., Khoshkam, V., Chávez-Gatty, M., Wang, H. L., Gargallo-Albiol, J., & Hernandez-Alfaro, F. (2015). Platelet-rich plasma for periodontal regeneration in the treatment of intrabony defects: a meta-analysis on prospective clinical trials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 120(5), 562–574. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2015.06.035>
- Rowe, G., Hirsh, JB e Anderson, AK (2007). O afeto positivo aumenta a amplitude da seleção atencional. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 383–388. doi: 10.1073 / pnas.0605198104;
- Sam, G., Vadakkekuttical, R.J., Amol, N.V. (2015). In vitro evaluation o mechanical properties o platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination on its surface characteristics. *J Indian Soc Periodontol* 19, 32–36. <http://10.4103 / 0972-124X.145821>;
- Samani, M. K., Saberi, B. V., Tabatabaei, S. M. A., & Moghadam, M. G. (2019). The clinical evaluation of platelet - rich plasma on free gingival graft’ s donor site wound healing. *European Journal of Dentistry*, 11(4), 447–454. <https://doi.org/10.4103/ejd.ejd>;
- Seeley, R. R., Tate, P., & Stephens, T. D. (2011). *Essentials of Anatomy & Physiology* (6th ed.), McGraw-Hill;
- Shah, M., Patel, J., Dave, D., Shah, S. (2015). Comparative evaluation of platelet-rich fibrin with demineralized freeze-dried bone allograft in periodontal infrabony defects: A randomized controlled clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(1), 56-60. <https://doi.org/10.4103 / 0972-124X.145803>;
- Sharma, A., & Pradeep, A. R. (2011a). Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Mandibular Degree II Furcation Defects: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 82(10), 1396–1403. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.100731>;
- Sharma, A., & Pradeep, A. R. (2011b). Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Patients With Chronic Periodontitis With Autologous Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 82(12), 1705–1712.

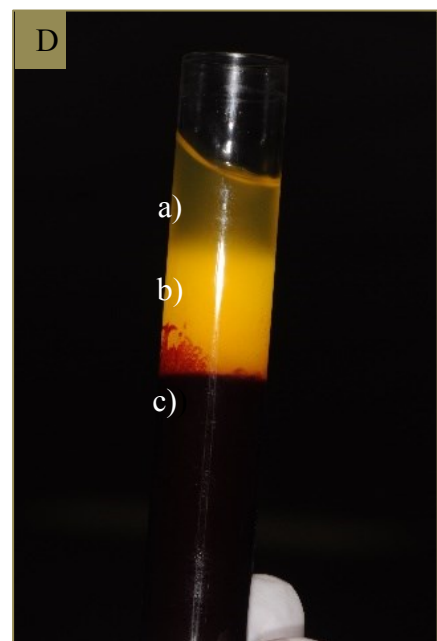
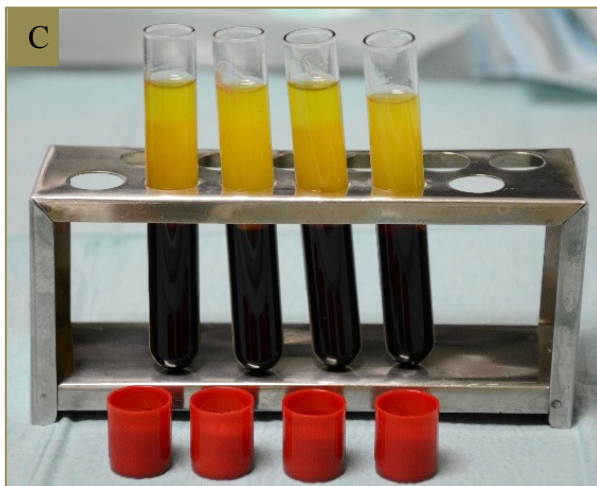
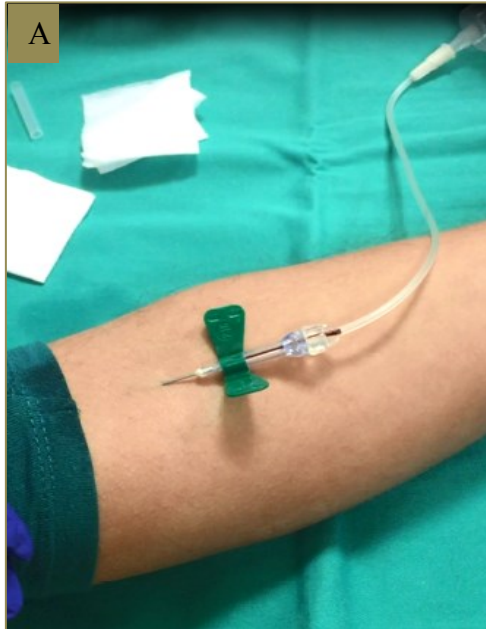
- <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110075>;
- Siddiqui, Z. R., Jhingran, R., Bains, V. K., Srivastava, R., Madan, R., & Rizvi, I. (2016). Comparative evaluation of platelet-rich fibrin versus beta-tri-calcium phosphate in the treatment of Grade II mandibular furcation defects using cone-beam computed tomography. *European Journal of Dentistry*, 10(4), 496–506. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.195160>;
- Skaliczki, G., Schandl, K., Weszl, M., Major, T., Kovacs, M., Skaliczki, J. (2013) Serum albumin enhances bone healing in a nonunion femoral defect model in rats: a computer tomography micromorphometry study. *Int Orthopaedics*, 37(3), 741–745. <http://doi.org/10.1007/s00264-012-1770-8>;
- Sousa, F., Machado, V., Botelho, J., Proença, L., Mendes, J. J., & Alves, R. (2020). Effect of A-PRF Application on Palatal Wound Healing after Free Gingival Graft Harvesting: A Prospective Randomized Study. *European Journal of Dentistry*, 14(1), 63–69. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1702259>;
- Strauss, F. J., Nasirzade, J., Kargarpour, Z., Stähli, A., & Gruber, R. (2020). Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies. *Clinical Oral Investigations*, 24(2), 569–584. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-03156-9>;
- Thamaraiselvan, M., Elavarasu, S., Thangakumaran, S., Gadagi, J. S., Arthie, T. (2015). Comparative clinical evaluation of coronally advanced flap with or without platelet rich fibrin membrane in the treatment of isolated gingival recession. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(1), 66-71. <https://doi.org/10.4103 / 0972-124X.145790>;
- Thorat, M., Baghele, O., & P.S., R. (2017). Adjunctive Effect of Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Intrabony Defects in Localized Aggressive Periodontitis Patients: A Randomized Controlled Split-Mouth Clinical Trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 37(6), e302–e309. <https://doi.org/10.11607/prd.2972>;
- Tunali, M., Ozdemir, H., Arabaci, T., Gurbuzer, B., Pikdoken, L., & Firatli, E. (2015). Clinical Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Multiple

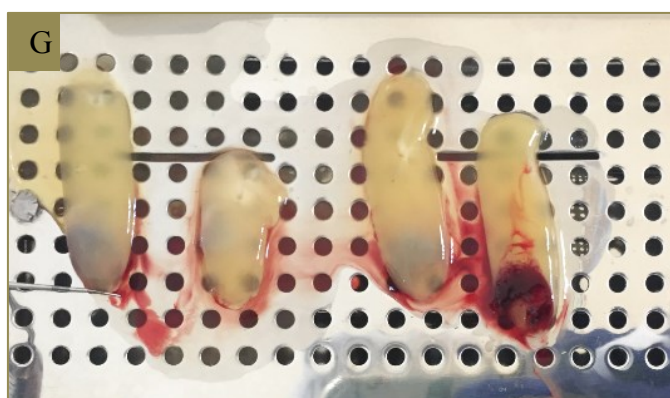
- Adjacent Gingival Recession Defects: A 12-Month Study. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 35(1), 105–114. <https://doi.org/10.11607/prd.1826>;
- Tunali, M., Özdemir, H., Küçükodaci, Z., Akman, S., Yaprak, E., Toker, H., & Firatli, E. (2014). A novel platelet concentrate: Titanium-prepared platelet-rich fibrin. *BioMed Research International*, 13(6), 48-54. <https://doi.org/10.1155/2014/209548>;
- Uzun, B. C., Ercan, E., & Tunal, M. (2017). Effectiveness and predictability of titanium-prepared platelet-rich fibrin for the management of multiple gingival recessions. *Clinical Oral Investigation*, 22(3), 1345-1354. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2211-2>;
- Van der Meer, P. F. (2013). Platelet concentrates, from whole blood or collected by apheresis?. *Transfusion and Apheresis Science*, 48(2), 129–131. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2013.02.004>
- Verma, U. P., Yadav, R. K., Dixit, M., & Gupta, A. (2017). Platelet-rich Fibrin: A Paradigm in Periodontal Therapy – A Systematic Review. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 7(5), 227–233. <https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD>;
- Whitman, D. H., Berry, R. L., & Green, D. M. (1997). Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 55(11), 1294–1299. [https://doi.org/10.1016/S0278-2391\(97\)90187-7](https://doi.org/10.1016/S0278-2391(97)90187-7);
- Wroblewski, A. P., Mejia, H. A., & Wright, V. J. (2010). Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 20(2), 98–105. <https://doi.org/10.1053/j.oto.2009.10.006>;
- Wu, P. I. K., Diaz, R., & Borg-Stein, J. (2016). Platelet-Rich Plasma. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 27(4), 825–853. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2016.06.002>;
- Yang, L.-C., Hu, S.-W., Yan, M., Yang, J.-J., Tsou, S.-H., & Lin, Y.-Y. (2015). Antimicrobial Activity of Platelet-Rich Plasma and Other Plasma Preparations Against Periodontal Pathogens. *Journal of Periodontology*, 86(2), 310–318.

<https://doi.org/10.1902/jop.2014.140373>;

- Yelamali, T. e Saikrishna, D. (2015). Role of Platelet Rich Fibrin and Platelet Rich Plasma in Wound Healing of Extracted Third Molar Sockets: A Comparative Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 14(2), 410–416. 10.1007 / s12663-014-0638-4;
- Zhou S, Sun C, Huang S, Wu X, Zhao Y, Pan C, Wang H, Liu J, Li Q, Kou Y. (2018) Efficacy of Adjunctive Bioactive Materials in the Treatment of Periodontal Intrabony Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int.*, 2018, 1-15. 10.1155/2018/8670832;

V. ANEXOS





Anexo 1 – Etapas de produção de L-PRF – Protocolo de Dohan. A- Recolha de sangue; B – Centrifuga (Intra-spin); C – 1 etapa da preparação das membranas após centrifugação do sangue. Podemos ver as membranas de L-PRF a repousar, ainda no tubo, após centrifugação; D - Representação das camadas presentes no tubo após centrifugação – a) Plasma acelular; b) coágulo L-PRF; c) camada de eritrócitos e outras células sanguíneas; E – campo e instrumentos necessários à preparação de concentrados PRF; F – Caixa de compressão; G - membranas L-PRF preparadas e prontas a utilizar. (figuras C e D gentilmente cedidas pelo Prof. Doutor Ricardo Alves).

